ABRÉGÉS

Transfusion sanguine

J.- J. Lefrère
P. Rouger

5e édition

Entièrement revue et actualisée

ELSEVIER
MASSON

Chez le même éditeur

Hématologie. Avec accès à la spécialité sur le site e-ecn.com, par la Société Française d'Hématologie, 2e édition, Les référentiels des Collèges, 2014, 384 pages.

Hématologie. Oncohématologie, par T. Coman, L. Karlin, Cahiers des ECN, 2011, 368 pages.

Guide de thérapeutique 2015, par L. Perlemuter, G. Perlemuter, 8e édition, 2014, 2 432 pages.

Abrégés de médecine

Transfusion sanguine

Jean-Jacques Lefrère†
Professeur à la faculté de médecine René-Descartes, Paris–V
Directeur général de l'Institut national de la transfusion sanguine, Paris

Philippe Rouger
Professeur à la faculté de médecine Pierre-et-Marie-Curie, Paris–VI
Ancien Directeur général de l'Institut national de la transfusion sanguine
Ancien Président de la Société française de transfusion sanguine
Expert agréé par la Cour de cassation

5e édition

ELSEVIER
MASSON

Ce logo a pour objet d'alerter le lecteur sur la menace que représente pour l'avenir de l'écrit, tout particulièrement dans le domaine universitaire, le développement massif du « photocopillage ».
Cette pratique qui s'est généralisée, notamment dans les établissements d'enseignement, provoque une baisse brutale des achats de livres, au point que la possibilité même pour les auteurs de créer des œuvres nouvelles et de les faire éditer correctement est aujourd'hui menacée.
Nous rappelons donc que la reproduction et la vente sans autorisation, ainsi que le recel, sont passibles de poursuites. Les demandes d'autorisation de photocopier doivent être adressées à l'éditeur ou au Centre français d'exploitation du droit de copie : 20, rue des Grands-Augustins, 75006 Paris.
Tél. 01 44 07 47 70.

Tous droits de traduction, d'adaptation et de reproduction par tous procédés, réservés pour tous pays.
Toute reproduction ou représentation intégrale ou partielle, par quelque procédé que ce soit, des pages publiées dans le présent ouvrage, faite sans l'autorisation de l'éditeur est illicite et constitue une contrefaçon. Seules sont autorisées, d'une part, les reproductions strictement réservées à l'usage privé du copiste et non destinées à une utilisation collective et, d'autre part, les courtes citations justifiées par le caractère scientifique ou d'information de l'œuvre dans laquelle elles sont incorporées (art. L. 122-4, L. 122-5 et L. 335-2 du Code de la propriété intellectuelle).

© 2015, Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés
ISBN : 978-2-294-74496-9
e-ISBN : 978-2-294-74631-4

Elsevier Masson SAS, 62, rue Camille-Desmoulins, 92442 Issy-les-Moulineaux CEDEX
www.elsevier-masson.fr

Les auteurs

Coordonné par :

Jean-Jacques Lefrère† et Philippe Rouger.

Liste des collaborateurs :

Les chiffres entre crochets indiquent le ou les chapitre(s) et/ou sous-chapitres au(x) quel(s) l'auteur a collaboré ou qu'il a rédigé(s).

Christophe Barisien, médecin chef de service, service prélèvements, EFS Bourgogne – Franche-Comté, site de Besançon. [5.5]

Jean-Jacques Cabaud, responsable scientifique et pédagogique du département formation, chargé de mission DPC, INTS, Paris. [13]

Jean-Pierre Cartron, ancien directeur de l'unité Inserm U76, ancien directeur scientifique de l'INTS, Paris. [12]

Yves Colin Aronovicz, directeur de recherche au CNRS, directeur de l'unité Inserm UMR S665, INTS, Paris. [2.2 et 3]

Anne Cortey, responsable UF clinique, CNRHP (Centre national de référence en hémobiologie périnatale), AP-HP, hôpital Saint-Antoine, Paris. [3.4]

Bruno Danic, médecin, EFS Bretagne, Rennes. [1, 9, 10 et 11]

Anne François, praticien hospitalier en hémobiologie-transfusion, EFS Ile-de-France, responsable du site transfusionnel de l'HEGP, Paris. [4.3 et 5.3]

Sabine Fürst, praticien hospitalier, département d'hématologie, unité de transplantation et de thérapie cellulaire, Institut Paoli-Calmettes, Marseille. [6.3]

Olivier Garraud, professeur des universités, université de Lyon, Saint-Étienne, directeur de l'EFS Auvergne-Loire. [5 et 11]

Syria Laperche, médecin biologiste, virologue, unité d'expertise en virologie, Centre national de référence des hépatites B et C et du VIH en transfusion, INTS, Paris. [3 et 4]

François Lefrère, praticien hospitalier, service de biothérapie, hôpital Necker, Paris. [2.1, 6.2]

Agnès Mailloux, praticien hospitalier, UF de biologie du CNRHP (Centre national de référence en hémobiologie périnatale), AP-HP, hôpital Saint-Antoine, Paris. [3.4]

Marianne de Montalembert, praticien hospitalier, hôpital Necker, Paris. [3, 5]

Pascal Morel, directeur de l'EFS Bourgogne – Franche-Comté, Besançon. [1.3]

Christian Naegelen, responsable préparation logistique PSL, EFS Bourgogne – Franche-Comté, Besançon. [1]

Stéphane Noël, directeur délégué de l'EFS, Saint-Denis. [1]

Thierry Peyrard, biologiste, Centre national de référence pour les groupes sanguins (CNRGS), INTS, Paris. [3.1, 3.2]

Jean-Yves Py, correspondant d'hémovigilance, directeur médical EFS, Centre-Atlantique, Orléans. [4.3]

Jean-Antoine Ribeil, praticien hospitalier, service de biothérapie, hôpital Necker, Paris. [2.1]

Thierry Schneider, médecin, EFS Pays de Loire, Nantes. [5.4]

Luc Sensebé, directeur médical et scientifique, EFS Pyrénées-Méditerranée, Toulouse. [6.1]

Camille Sureau, directeur de recherche au CNRS, unité Inserm, UMR S665. [12]

Jean-Philippe Vincent, vétérinaire, auditeur certifié AFNOR pour les systèmes qualité, responsable qualité-risques-évaluation, INTS, Paris. [8]

Jean-Luc Wautier, professeur des universités, praticien hospitalier, université Diderot, centre de ressources biologiques, groupe hospitalier Saint-Louis – Lariboisière, Paris. [7]

Thierry Zunino, coordonnateur du pôle formation, INTS, Paris. [13]

Avec la collaboration technique de Catherine Rincé.

Avant-propos

Quel devenir pour la transfusion sanguine ?

Depuis près d'un siècle, le sang et ses dérivés sont utilisés efficacement à des fins thérapeutiques chez l'homme. C'est depuis plus de cinquante ans que de nombreux laboratoires de par le monde ont tenté de mettre au point des substituts.

Ce sont les méthodes de recombinaison génétique (et dérivés) qui ont rapidement permis de produire le facteur VIII *in vitro*, protéine bien tolérée et totalement ou partiellement absente chez l'hémophile A. Ainsi, il y a trente ans, les essais thérapeutiques étaient concluants et permettaient une nouvelle ère de traitement de cette anomalie de la coagulation, en traitant environ 5 000 patients en France dont 2 500 cas graves.

Toute autre est la problématique posée par le globule rouge et les cellules en général. En plus de cinquante ans, de nombreux travaux de recherche ont été développés pour mettre au point un substitut à même de transporter l'oxygène des alvéoles pulmonaires aux tissus. Parmi ces programmes, citons l'hémoglobine purifiée, l'hémoglobine de recombinaison génétique, l'encapsulation (par liposomes) de différents autres types d'hémoglobine. Tous les essais cliniques chez l'animal et chez l'homme se sont soldés par des échecs. Seule l'érythropoïétine, un facteur de croissance de la lignée érythroïde, a montré un rôle amplificateur sur la lignée rouge ; néanmoins, son utilisation est limitée et restreinte à certaines pathologies.

Ces constats ont conduit au fait qu'il n'y avait pas de substitut efficace et à moindre risque. À ce stade, le problème est d'autant plus souciant que plus de deux millions de concentrés globulaires sont utilisés chaque année pour traiter plus de 500 000 patients…, alors même que les indications tendent à s'élargir ; ce type de produits, au plan thérapeutique, pose de nombreuses problématiques dont cinq majeures :

1. Le nombre de culots globulaires disponibles pour répondre aux besoins des malades dépend de la collecte, c'est-à-dire du nombre de dons et de donneurs. En France, il arrive que la situation entre l'offre et la demande soit en flux tendu. Que dire de la situation mondiale, alors que l'autosuffisance européenne semble plus affirmée ?

2. La sécurité (infectieuse, immunologique) de ces produits biologiques est assurée par des tests dont la réalisation dépend des normes nationales, européennes et internationales, selon les pays. Il s'agit de produits qui à l'échelle mondiale sont souvent insuffisamment standardisés. Il ne faut pas que la sécurité s'oppose à l'autosuffisance : le juste milieu doit être respecté.

3. Les difficultés de standardisation sont néanmoins palliées par l'automation, l'informatisation et les contrôles.

4. Les indications et prescriptions restent un domaine encore mal maîtrisé, en particulier du fait de relations imparfaites entre le producteur (Établissement français du sang) et l'utilisateur (services cliniques).
5. La formation de tous les acteurs est encore trop parcellaire.

Ainsi, les concentrés globulaires humains ne pourront être remplacés pendant une longue période (beaucoup plus d'une décennie). C'est dire que la transfusion classique a encore une longue durée de vie et que toutes les règles afférentes doivent faire l'objet d'attention particulière.

Nous voudrions rendre hommage aux donneurs de sang et aux professionnels de la transfusion sanguine qui œuvrent avec l'objectif commun de sauver des vies. C'est à eux que le présent ouvrage est dédié.

Professeur Jean-Jacques Lefrère†
Professeur Philippe Rouger

Quelques mots du Professeur Philippe Rouger

Jean-Jacques,

Lorsque je t'ai proposé de codiriger cet ouvrage, je me souviens encore de ton enthousiasme, ensuite tu as révélé un dynamisme de tous les instants.

Ton décès, en ce jour d'avril 2015, ne ternira pas ton « empreinte » sur l'écriture et la transmission du savoir à l'intention des générations présentes et futures. Nous avions déjà entamé la rédaction d'un autre ouvrage qui paraîtra...

Tu resteras pour moi, un ami, un médecin passionné et un successeur, doublé d'un homme de lettres.

À Paris, le 18 avril 2015.

Philippe

Un exemple de possible réforme de la transfusion sanguine française

Rapport d'Olivier Véran, *La filière du sang en France*

Le docteur Olivier Véran, député, a été chargé en 2013 d'une mission qui l'a conduit à proposer de reconstruire le système du sang français. Ainsi, la filière du sang compterait quatre acteurs indépendants : l'Établissement français du sang (EFS) en charge de la collecte et de la préparation des produits sanguins labiles ; le Laboratoire français de fractionnement et des biotechnologies (LFB) pour la préparation et la commercialisation des produits dérivés du sang (ou médicaments dérivés du sang) ; l'Agence nationale du médicament (ANSM) pour les contrôles ; l'Institut national de la transfusion sanguine (INTS) en charge de la référence, de la recherche et de la formation. Concrètement, il propose un Haut Conseil de la filière du sang (HCFS). Il s'agirait d'une assemblée générale des parties prenantes, incluant malades et donneurs. L'HCFS serait présidé par un parlementaire. Ce nouveau dispositif pourrait être opérationnel dans les trois à cinq ans à venir.

L'application de la mission conduirait à une autre réforme, celle de l'autonomie des établissements.

Abréviations

AAT	alpha-1-antitrypsine
ACC	anticoagulant circulant
ADN	acide désoxyribonucléique
ADTS	Association pour le développement de la transfusion sanguine
AFH	Association française de l'hémophilie
AFS	Agence française du sang
AHAI	anémie hémolytique auto-immune
ALAT	alanine aminotransférase
AMM	autorisation de mise sur le marché
ANSM	Agence nationale de sécurité du médicament (anciennement Afssaps)
ANAES	Agence nationale d'accréditation et d'évaluation en santé
ANRS	Agence nationale de recherche sur le sida et les hépatites virales
ARN	acide ribonucléique
ARS	agence régionale de santé
AT	antithrombine
ATNC	agents transmissibles non conventionnels
ATP	adénosine triphosphate
ATU	autorisation temporaire d'utilisation
BOTIA	*Blood And Organ Transmissible Infectious Agents*
CCI	*Corrected Count Increment*
cDNA	ADN complémentaire
CEC	circulation extracorporelle
CFU	*Colony Forming Unit*
CGA	concentré de granulocytes d'aphérèse
CGDA	concentré globulaire déleucocyté d'aphérèse
CGR	concentré de globules rouges
CCNE	Comité consultatif national d'éthique
CIRC	Centre international de recherche sur le cancer
CIVD	coagulation intravasculaire disséminée
CIUTS	cursus intégré universitaire en transfusion sanguine
CME	commission médicale d'établissement
CMH	complexe majeur d'histocompatibilité
CMV	cytomégalovirus
CNH	Commission nationale d'hémovigilance
CNIL	Commission nationale de l'informatique et des libertés
CNP	Conseil national professionnel
CNRGS	Centre national de référence pour les groupes sanguins
CNRHP	Centre national de référence en hémobiologie périnatale
COFRAC	Comité français d'accréditation
CPA	concentré de plaquettes d'aphérèse
CPAD	concentré plaquettaire d'aphérèse déleucocyté
CPS	concentré de plaquettes standard

CRB	centre de ressources biologiques
CRH	coordonnateur régional d'hémovigilance
CSH	cellule souche hématopoïétique
CSM	cellule stromale mésenchymateuse
CSP	cellule souche périphérique
CSP	Code de la santé publique
CSTH	Comité de sécurité transfusionnelle et d'hémovigilance
CTSA	Centre de transfusion sanguine des armées
CTT	capacité en technologie transfusionnelle
CUPT	Contrôle ultime pré-transfusionnel
DES	diplôme d'études spécialisées
DESC	diplôme d'études spécialisées complémentaires
DGOS	Direction générale de l'offre des soins
DGV	dépistage génomique viral
DMSO	diméthylsulfoxyde
DPC	développement professionnel continu
DUQ	diplôme universitaire de formation aux normes de qualité
DUTS	diplôme universitaire de transfusion sanguine
EAPPI	*European Association of the Plasma Products Industry*
EFI	*European Foundation for Immunogenetics*
EFS	Établissement français du sang
EHN	*European Haemovigilance Network*
EID	effet indésirable chez le donneur
EIGD	effet indésirable grave chez le donneur
EIR	effet indésirable chez le receveur
EPFA	*European Plasma Fractionation Association*
EPO	érythropoïétine
ERTS	établissement régional de transfusion sanguine
ES	établissement de soins et de santé
ESB	encéphalopathie spongiforme bovine
ESST	encéphalopathie subaiguë spongiforme transmissible
ETS	établissement de transfusion sanguine
Eurocord	*European research project on cord blood transplantation*
FCH	facteur de croissance hématopoïétique
FD	fiche de délivrance
FEIR	fiche d'effet indésirable chez le receveur
FFDSB	Fédération française pour le don de sang bénévole
FIODS	Fédération internationale des organisations de donneurs de sang
GBEA	guide de bonne exécution des analyses de biologie médicale
G-CSF	*Granulocyte Colony Stimulating Factor*
GIP	groupement d'intérêt public
GM-CSF	*Granulocyte Macrophage Colony Stimulating Factor*
GVH	*Graft versus Host*
GVL	*Graft versus Leukemia*
Gy	*Gray*
HAS	Haute Autorité de Santé

HCFS	Haut Conseil de la filière du sang
HLA	*Human Leucocyte Antigen*
HPA	*Human Platelet Antigen*
HPST	Hôpital, Patient, Santé, Territoire
HTLA	*High Titer Low Affinity*
HTLV	*Human T-cell Leukemia Virus*
ICT	incident de la chaîne transfusionnelle
IFSI	institut de formation en soins infirmiers
INTS	Institut national de la transfusion sanguine
InVS	Institut national de veille sanitaire
IPD	information post-don
IPS	*Induced Pluripotent Stem cells*
IRA	insuffisance rénale aiguë
ISBT	*International Society of Blood Transfusion*
LABM	laboratoire de biologie médicale
LFB	Laboratoire français du fractionnement et des biotechnologies
MACE	*Monoclonal Antibody Capture ELISA*
MAIPA	*Monoclonal Antibody-Specific Immobilization of Platelet Antigen*
MCJ	maladie de Creutzfeldt-Jakob
MCP	mélange de concentré de plaquettes
MCPSD	mélange de concentrés plaquettaires déleucocytés
MDS	médicament dérivé du sang
MGDF	*Megakaryocyte Growth and Differentiation Factor*
MHNN	maladie hémolytique du nouveau-né
NFS	numération-formule sanguine
OAP	œdème aigu du poumon
OMS	Organisation mondiale de la Santé
PCR	*Polymerase Chain Reaction*
PDGF	*Platelet-derived Growth Factor*
PFC	plasma frais congelé
PFCAD-IA	plasma viro-atténué par amotosalen
PMI	protection maternelle et infantile
PRP	plasma riche en plaquettes
PSL	produit sanguin labile
PTAI	purpura thrombopénique auto-immun
PTC	produit de thérapie cellulaire
PTT	purpura thrombotique thrombocytopénique
PVA	plasma viro-atténué
PVA-BM	plasma viro-atténué par le bleu de méthylène
PVA-SD	plasma viro-atténué par solvant-détergent déleucocyté
QBD	qualification biologique du don
RAI	recherche d'agglutinines irrégulières
RFSP	Réseau français de sang placentaire
RNSP	Réseau national de santé publique
RTP	rendement transfusionnel plaquettaire
SAG	sodium, adénine, glucose

SAG-M	sodium, adénine, glucose, mannitol
SFAR	Société française d'anesthésie-réanimation
SFBCT	Société française de bio-ingénierie cellulaire et tissulaire
SFTS	Société française de transfusion sanguine
SFVTT	Société française de vigilance et de thérapeutique transfusionnelle
Sida	syndrome d'immunodéficience acquis
SITS	Société internationale de transfusion sanguine
SNP	*Single Nucleotide Polymorphism*
SOTS	schéma d'organisation de la transfusion sanguine
TAP	transfusion autologue programmée
TDA	test direct à l'antiglobuline
THPM	très haut poids moléculaire
TRALI	*Transfusion-Related Acute Lung Injury*
VHB	virus de l'hépatite B
VHC	virus de l'hépatite C
VIH	virus de l'immunodéficience humaine
vMCJ	variant de la maladie de Creutzfeldt-Jakob
VPT	volume plasmatique total
VST	volume sanguin total
vWF	*von Willebrand Factor*
WNV	*West Nile Virus*

Organisation de la transfusion sanguine en France

La transfusion sanguine française est née réglementairement du vote de la loi de 1952 ; cette loi donnait les grandes lignes éthiques de la transfusion sanguine, ainsi que son mode d'organisation. Elle sera complétée en 1954 par un décret détaillé. De cette période à la période du sang contaminé, il y aura très peu de textes réglementaires opposables.

En France, la transfusion sanguine relève du service public. Son organisation a été initialement définie par la loi de 1952 et ses textes d'application. La loi du 4 janvier 1993 relative à la sécurité en matière de transfusion sanguine et de médicament a mis en place une nouvelle organisation et de nouvelles structures. Sa promulgation était liée à la mise en évidence de dysfonctionnements médico-techniques et administratifs survenus au cours des années 1980. L'article 22 de cette loi prévoyait un bilan et une éventuelle révision du texte législatif cinq ans après sa mise en application, et ceci a abouti à de nouveaux débats qui ont conduit à la loi du 1er juillet 1998.

Ainsi, c'est selon l'ordre chronologique qu'il convient d'aborder l'organisation transfusionnelle d'aujourd'hui. En matière de transfusion sanguine spécifique, la loi du 4 janvier 1993 comportait six thèmes fondamentaux :

- le premier était l'affirmation des principes éthiques du don du sang : ce don demeure bénévole, anonyme, gratuit, volontaire, et n'est effectué qu'après le consentement du donneur ;
- le deuxième était la création d'un organisme de régulation et de coordination nationale : l'Agence française du sang (AFS) ;
- le troisième était l'élaboration et l'application des bonnes pratiques transfusionnelles par les établissements de transfusion ;
- le quatrième était l'élaboration et la mise en œuvre d'un réseau national de surveillance de la collecte du sang et des effets secondaires liés à la transfusion observés chez les receveurs de sang : c'est le dispositif d'hémovigilance ;
- le cinquième était l'organisation territoriale de la transfusion sanguine dans le cadre de schémas d'organisation cohérents ;
- le sixième et dernier était la restructuration du fractionnement du plasma avec la création d'un Laboratoire français du fractionnement et des biotechnologies (LFB), qui évolue depuis au gré des approches pharmaceutiques.

© 2015 Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

L'application de cette loi a rapidement révélé de nombreux aspects positifs, notamment la mise à jour de textes réglementaires qui dataient de plus de quarante ans, la création d'organismes nationaux de coordination, de régulation et de contrôle, la définition précise des missions des établissements de transfusion, ainsi que la mise en conformité des textes avec les réflexions éthiques entérinées par la définition et la mise en application des lois.

Loi du 1er juillet 1998

Dès 1996, en particulier du fait de l'affaire de l'épidémie du variant de la maladie de Creutzfeldt-Jakob, les responsables politiques et administratifs ont entamé une nouvelle réflexion sur la santé publique et la sécurité sanitaire. La réforme qui devait émaner de cette réflexion allait se concrétiser autour de trois axes :

- un renforcement de la veille sanitaire, qui a été élargie à l'ensemble des domaines de la médecine et de la santé, avec la création d'un Institut national de veille sanitaire (InVS), émanation du Réseau national de santé publique (RNSP) ;
- le renforcement de la sécurité des produits de santé, élargie à l'ensemble des produits de santé utilisés par l'homme, allant ainsi du médicament aux cosmétiques. Ce pôle sécuritaire a été créé à partir de l'Agence du médicament, sous forme de l'Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé (ANSM) ;
- la création d'une Agence française de sécurité sanitaire des aliments (Afssa).

Ces évolutions devaient obligatoirement avoir des répercussions sur l'organisation du service public de la transfusion. Les principales modifications ont porté sur :

- la redéfinition des missions de l'Agence française du sang en tant que structure de coordination du réseau transfusionnel, et la création d'un ensemble intégré : l'Établissement français du sang (EFS) ;
- la réorganisation des schémas territoriaux dans le cadre d'une régionalisation accrue en cohérence avec les agences régionales de santé (ARS), planifiée à l'origine en fonction des bassins de population ; ces agences ont été créées par la loi HPST (pour « hôpital, patient, santé, territoire ») du 21 juillet 2009.

La loi du 1er juillet 1998 relative au renforcement de la veille sanitaire et du contrôle de la sécurité sanitaire des produits destinés à l'homme a réaffirmé tous les principes éthiques de la transfusion sanguine, et ce au moment où la mondialisation rend de plus en plus difficile toute référence à ce type de principes. Elle a jeté les bases d'une nouvelle organisation en créant un opérateur unique. Cette loi a confirmé un principe essentiel : le

caractère anonyme, bénévole et volontaire du don de sang, et ce quel que soit le type de don. Elle a également affirmé la nécessité de l'information et du consentement du donneur. Tous ces éléments sont d'importance quand on analyse les disparités à l'échelle européenne ou mondiale, où les systèmes marchands prennent une place sans cesse accrue.

En rapport avec l'éthique, la loi définit bien le rôle respectif de l'activité transfusionnelle et de l'activité de soins, responsabilité des établissements de soins.

Il est par ailleurs important de souligner que les pouvoirs publics ont créé un Conseil national d'hémovigilance et un conseil scientifique commun à l'EFS et à l'INTS, afin de contribuer à l'harmonisation du fonctionnement des activités transfusionnelles dans leur ensemble.

Établissement français du sang

La loi du 1er juillet 1998 crée un opérateur national et civil, l'Établissement français du sang (EFS), en charge, pour l'essentiel, de cinq types d'activité :

- la collecte, incluant la promotion du don et la sélection médicale des donneurs ;
- la qualification biologique des dons ;
- la préparation des produits sanguins labiles ;
- la délivrance des produits sanguins labiles ;
- des activités annexes liées à la transfusion sanguine.

L'EFS développe également des activités de recherche en rapport avec ses missions. Le monopole réside sur les activités de collecte, de qualification et de préparation.

Sur le plan territorial, l'évolution a conduit à une régionalisation des ETS, établissements déconcentrés de l'EFS. Ce dernier est composé de quatorze établissements régionaux ou interrégionaux de transfusion sanguine en métropole et de trois dans les DOM, mais ceci est en perspective de restructuration.

L'EFS a été créé le 1er janvier 2000[1]. Il doit gérer :

- une très large déconcentration de la collecte et de la distribution : le prélèvement doit rester très proche des donneurs et la délivrance doit être effectuée là où se concentrent les besoins en produits sanguins, donc à proximité des établissements de soins ;
- une organisation et un fonctionnement de plateaux techniques biologiques et de préparation qui répondent aux besoins des ETS ;
- une coordination des ETS selon des modes simples et efficaces.

1. Siège social de l'EFS : 20, avenue du Stade de France, 93218 La Plaine Saint-Denis.

Certaines compétences ont été transférées à l'ANSM : l'hémovigilance, l'inspection des ETS, la rédaction des bonnes pratiques transfusionnelles.

Dépôts de sang

Particularité transfusionnelle française, les dépôts de sang sont au nombre de sept cents (deux cents sont des dépôts de délivrance, cinq cents sont des dépôts d'urgence ou relais). Jusqu'alors régis par les agences régionales d'hospitalisation, ils sont désormais sous la tutelle des agences régionales de santé ; chacun reçoit une autorisation accordée pour une durée renouvelable de cinq années.

Centre de transfusion sanguine des armées

Le Centre de transfusion sanguine des armées « Jean-Julliard » (CTSA) est un organisme du service de santé des armées créé en 1945 et placé sous l'autorité du ministre de la Défense. Il possède l'ensemble des plateaux techniques nécessaires à la pratique transfusionnelle. Sa mission prioritaire est l'approvisionnement en PSL des forces armées en opération, mais il prend en charge également le soutien transfusionnel de différents hôpitaux des armées implantés en région parisienne et à Toulon. Les différents types d'activités annexes à la pratique transfusionnelle (thérapie cellulaire, tissulaire en particulier) sont développés au CTSA et sont soumis, comme l'activité transfusionnelle, aux contrôles de l'ANSM. Il en est de même pour l'hémovigilance. Constitué d'une structure centrale située à Clamart, il possède un site secondaire à Toulon.

Institut national de la transfusion sanguine

L'Institut national de la transfusion sanguine (INTS) a été créé par un arrêté interministériel du 31 mars 1994[2]. Sa création a représenté la concrétisation des volontés conjointes de l'AFS, de la Caisse nationale d'assurance maladie des travailleurs salariés (CNAMTS) et du ministère de la Santé en vue de promouvoir et d'optimiser les activités de recherche, de référence et de formation que développe l'INTS au sein du service public de la transfusion. L'INTS a été confirmé dans ses missions actualisées par les arrêtés du 2 mai 2007, du 26 janvier 2012 et du 31 décembre 2012, permettant d'avoir une visibilité de l'INTS jusqu'en 2017.

Acteur médical, scientifique et technique au service du réseau transfusionnel national, l'INTS œuvre dans l'esprit fédérateur de la loi du 1er juillet

2. Siège social de l'INTS : 6, rue Alexandre-Cabanel, 75015 Paris.

1998. Il a pour objectif d'être une plate-forme nationale d'échanges, mais il s'inscrit également au niveau européen, confortant ainsi l'évolution et les progrès de la discipline. Il est notamment acteur de premier plan dans l'organisation et la structuration de la transfusion européenne, à travers à la fois un réseau tel qu'EuroNet-TMS et des projets scientifiques collaboratifs permanents (projets BOTIA et EU-OBUP).

L'INTS a quatre missions fondamentales : la référence, la recherche, la formation, ainsi que les activités de conseil et d'expertise :

- les activités de référence et de biologie spécialisée ont pour finalité de réduire les risques infectieux et immunologiques des transfusions sanguines, contribuant à une sécurité transfusionnelle maximale et évolutive ;
- la recherche, en amont des activités de référence, apporte à l'activité transfusionnelle les connaissances de pointe dont doivent bénéficier les patients ;
- le pôle formation, par sa structure et ses liens avec l'université, favorise les échanges et assure une mise à jour permanente des connaissances de tous les acteurs de la transfusion. De la sorte, en intégrant les professionnels de terrain aux enseignements, l'INTS participe à la réflexion nécessaire sur les pratiques transfusionnelles ;
- enfin, l'INTS est régulièrement positionné comme acteur coordonnateur ou comme référent vis-à-vis des autres structures de santé, qu'elles soient à vocation strictement transfusionnelle ou non (ministre de la Santé, assurance maladie).

Laboratoire français du fractionnement et des biotechnologies

Le Laboratoire français du fractionnement et des biotechnologies (LFB) a été officiellement mis en place le 1er juin 1994[3]. Il a été transformé en société anonyme d'État (LFB SA), laquelle intervient dans deux domaines : les biomédicaments issus du plasma et les biotechnologies. La directive CE 89/381, transposée en droit positif français le 1er janvier 1993, attribue le statut de médicament aux produits issus du fractionnement, qui sont dits « médicaments dérivés du sang » (MDS) .

Le LFB est désormais reconnu par l'Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé(ANSM) comme le seul laboratoire autorisé à fractionner le plasma national. Il est soumis à la législation pharmaceutique et au contrôle de l'inspection de la pharmacie de cette Agence. Il répond également aux prescriptions de l'Agence européenne du médicament.

Le LFB dispose d'une gamme actualisée et sécurisée de médicaments dérivés du plasma, répartis selon leurs indications en trois familles essentielles :

3. Siège social du LFB : 3, avenue des Tropiques, Les Ulis, 91958 Courtabœuf.

- coagulation : facteurs VIII et IX anti-hémophiliques, facteur VII, facteur XI, facteur von Willebrand ;
- anesthésie-réanimation : albumine 4 % et 20 %, antithrombine, alpha-1-antitrypsine, protéine, fibrinogène, PPSB ;
- immunologie : immunoglobulines polyvalentes, anti-HBs et antitétaniques.

Établissements de soins et de santé

En France, tout établissement de soins et de santé (ES) est susceptible de transfuser des produits sanguins labiles. Ceci n'est pas sans poser le problème d'une exigence de maîtrise et de compétence de l'acte lorsqu'il le pratique peu souvent.

Partenaires institutionnels

Le paysage transfusionnel français fonctionne et évolue sous l'autorité de tutelle de la direction générale de la santé (DGS), sans obérer le rôle de l'ANSM dans le cadre des inspections, des contrôles et de l'hémovigilance. Les autres structures — comme la Haute Autorité de santé (HAS), la Direction générale de l'offre de soins (DGOS), l'Agence de biomédecine, l'Institut national de veille sanitaire (InVS) — interviennent également sur des secteurs spécifiques liés à l'activité transfusionnelle générale. Enfin, des structures telles que l'Inserm et les universités ont noué des relations partenariales et privilégiées avec certaines entités du paysage, afin de développer les activités scientifiques au service de la discipline elle-même.

Sur le plan européen, la Commission européenne (CE) et le Conseil de l'Europe ont un rôle essentiel dans la conception de directives, de recommandations et de normes visant à la sécurité et au bien-fondé de l'utilisation des produits sanguins labiles.

Autres partenaires de la transfusion sanguine

La *Société française de transfusion sanguine* (SFTS) est une société savante à caractère médical et scientifique, dont les objectifs sont de :
- proposer des innovations médico-scientifiques grâce à l'action de groupes de travail spécialisés ;
- diffuser des informations scientifiques sur la transfusion à travers la revue *Transfusion clinique et biologique* (éditions Elsevier) ;
- organiser des congrès nationaux et des séminaires ;
- coordonner les réflexions des médecins, pharmaciens, scientifiques et biotechnologistes impliqués dans la transfusion ;
- enfin, être un interlocuteur des pouvoirs publics dans ses domaines de compétence.

La SFTS est adhérente de la Fédération nationale des sociétés savantes médicales (FSM) et de la Société internationale de transfusion sanguine (SITS), cette dernière rassemblant l'ensemble des sociétés savantes de transfusion existant de par le monde. Par ailleurs, elle participe activement aux activités du réseau européen EuroNet-TMS.

La *Fédération française du don de sang bénévole* (FFDSB) regroupe plus de 2 300 associations et amicales qui, sur un plan local, collaborent activement avec les ETS dans le cadre de la promotion du don, de l'information des donneurs et de l'organisation des collectes de sang. La FFDSB fédère également trois groupements nationaux, issus d'entreprises du service public où la pratique du don du sang est fortement implantée — la SNCF (ANCDSB), La Poste et France-Télécom (UNADSBPTT) — et l'Éducation nationale (ADOSEN). Forte de plusieurs centaines de milliers d'adhérents, la FFDSB défend les principes éthiques qui régissent la transfusion française : bénévolat et volontariat du donneur, anonymat du receveur, non-profit sur les produits sanguins d'origine humaine. La FFDSB est adhérente de la Fédération internationale des organisations de donneurs de sang (FIODS).

La *Société française de vigilance et de thérapeutique transfusionnelle* (SFVTT) a pour champ d'action l'ensemble des vigilances liées aux produits d'origine humaine. Créée en 2000, cette société, d'essence pluridisciplinaire, vise à permettre, lors de congrès nationaux ou de journées de formation, de favoriser les échanges, les expériences et les connaissances nécessaires pour répondre aux préoccupations des professionnels de l'hémovigilance.

La *Société française d'hémaphérèse* (SFH) réunit les professionnels de la discipline transfusionnelle et d'autres disciplines œuvrant au développement de cette activité dans les divers domaines de la médecine où elle est impliquée, sur la base de la pratique des aphérèses et des échanges.

La *Société française de bio-ingénierie cellulaire et tissulaire* (SFBCT) a été créée dans les années 1970 sous le nom de France Cryo Bio-ingénierie par des médecins impliqués dans la conservation et la greffe de cellules et de tissus. Son but est de promouvoir les activités de la bio-ingénierie et de faciliter l'effort de recherche fondamentale sur les méthodes de préparation et de conservation des greffons.

La Société française de transfusion sanguine (SFTS), la Société française de vigilance et de thérapeutique transfusionnelle (SFVTT), la Société française d'hémaphérèse (SFH) et la Société française de bio-ingénierie cellulaire et tissulaire (SFBCT) se sont récemment réunies en une association intitulée *Conseil national professionnel de vigilance et thérapeutique transfusionnelles, tissulaires et cellulaires* (CNP V3TC).

L'*Association française des hémophiles* (AFH) est une structure d'aide aux patients atteints d'hémophilie ou de maladie de Willebrand, d'information — elle est affiliée à la Fédération mondiale de l'hémophilie —, de représentation auprès des pouvoirs publics, d'éducation des jeunes patients et de leurs parents, enfin de coopération avec le corps médical.

Les associations de malades sont de plus en plus fréquemment représentées dans les instances de conseil et les comités œuvrant pour la sécurité des receveurs.

1 Don du sang et produits sanguins

1.1 Don du sang et donneurs de sang

Plus de cent ans après la découverte des groupes sanguins, la transfusion sanguine demeure la seule source de produits thérapeutiques capables de se substituer à un dysfonctionnement, un défaut de production ou à une perte massive d'un ou de plusieurs composants sanguins. Le don du sang et de ses composants permet de traiter chaque année plus de 500 000 patients par des produits sanguins labiles (concentrés de globules rouges, de plaquettes et plasma thérapeutique) et 500 000 autres par des protéines issues du fractionnement plasmatique.

Par ailleurs, les besoins en produits sanguins tels les concentrés globulaires sont en augmentation de 24 % entre 2001 et 2010. Dans les autres pays européens, l'augmentation est très inférieure, mais après la période du sang contaminé, la baisse avait été moindre. En France, les variations sont relativement différentes selon les régions. Depuis 2011, la situation semble globalement se stabiliser.

En matière de produits issus du fractionnement, on note une forte augmentation des besoins en immunoglobulines intraveineuses.

Aussi les besoins en dons de sang humain s'avèrent-ils toujours plus nécessaires ; on tente donc de favoriser une politique de collecte aussi bien au niveau national qu'international dans le cadre d'une coopération efficace.

On observe, depuis 2011, une stabilisation de la consommation en CGR — certains pays européens observent même une diminution de leur consommation. Le problème majeur est celui des produits stables, désormais considérés comme des médicaments dérivés du sang et donc inclus dans un environnement concurrentiel à l'échelle du monde. La collecte du plasma en France doit avant tout être réservée à la filière française.

Donneurs

Chaque année, la France compte un peu moins de 1 700 000 donneurs de sang ; 22 à 21 % d'entre eux donnent pour la première fois. Comparée à la population générale en âge de donner son sang, celle des donneurs est plus jeune : 33 % ont moins de 30 ans, alors que cette tranche d'âge représente

© 2015 Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

25 % de la population de référence. Dans les quinze dernières années, les évolutions suivantes ont été observées :

- une féminisation progressive de la population des donneurs, particulièrement marquée chez les nouveaux donneurs ;
- un rétrécissement en terme de dons de la classe d'âge 30-49 ans ;
- une représentation croissante des jeunes (18-29 ans), notamment chez les femmes ;
- une plus forte représentation des seniors (50-65 ans), plus particulièrement chez les hommes.

Interrogés par le Centre de recherches pour l'étude et l'observation des conditions de vie (CREDOC) en 2007, 52 % des Français prétendaient avoir offert leur sang au cours de leur vie, et 34 % déclaraient avoir l'intention de le faire dans les 6 mois suivants. En réalité, chaque année, c'est environ 4 % de la population en âge de donner qui effectue cette démarche. Ce décalage important entre l'intention et l'acte traduit à la fois l'image positive et valorisante du don, mais aussi les freins qui limitent le passage à l'acte. Pour autant, environ 400 000 personnes offrent leur sang chaque année pour la première fois. On a observé une augmentation croissante des prescriptions de sang de 2001 à 2012 pour différentes raisons qui seront exposées ci-dessous, contrastant avec une baisse des prescriptions depuis 2012.

Il n'existe pas de profil type du donneur de sang. L'appel au don s'adresse à tous les citoyens, et ceci d'autant plus qu'il est bénévole. Pour autant, il semble que les professions intermédiaires et les étudiants soient des populations particulièrement représentées chez les donneurs de sang réguliers. Les professions supérieures se retrouvent davantage dans la catégorie des donneurs occasionnels ; la participation au don est moindre chez les indépendants (commerçants, artisans), les ouvriers, les employés et les inactifs.

Pour adapter l'approvisionnement en produits sanguins aux variations des prescriptions, des techniques issues de la communication et du marketing social sont devenues indispensables. Le potentiel de générosité existe. Sa gestion est cependant délicate pour un approvisionnement quotidien tout au long de l'année. Certaines périodes connaissent des situations de tension dans les réserves de produits sanguins : le début de l'année et la fin de la période estivale. Une régulation des stocks et de l'approvisionnement à deux niveaux, régional et national, garantit la disponibilité des produits sanguins sur l'ensemble du territoire (métropole et DOM) et l'anticipation des périodes critiques.

Organisation des collectes

En 2013, 2 586 000 dons de « sang total » et 244 000 dons par aphérèse ont été prélevés sur les 152 sites fixes et les 15 000 lieux de collecte mobile proposés par l'Établissement français du sang (EFS). Le Centre de transfusion sanguine des armées (CTSA) garantit, de son côté, l'approvisionnement en

produits sanguins des forces armées en opérations extérieures et organise des collectes de sang exclusivement en milieu militaire.

Environ 80 % des dons de sang total sont réalisés sur des collectes mobiles, soit dans des véhicules aménagés, soit dans des locaux mis à disposition par les collectivités accueillantes : municipalités, établissements d'enseignement, entreprises ou administrations, enceintes militaires. Ces collectes sont organisées avec le soutien de plus de 2 750 associations de donneurs particulièrement engagés dans la promotion du don, regroupant environ 750 000 donneurs ou adhérents. Cette force associative est structurée sur le plan local, départemental, régional et national au sein de la Fédération française pour le don de sang bénévole (FFDSB) .

L'organisation des collectes répond à des critères strictement définis par les « bonnes pratiques transfusionnelles ». Les conditions de réalisation de la collecte doivent faire l'objet d'une évaluation préalable, sur la base d'un cahier des charges qui prend en compte des critères de sécurité, de luminosité, de confidentialité, de surface, de confort ou encore d'accessibilité.

Le public sollicité doit être en mesure de comprendre les enjeux de l'entretien pré-don. Il doit adhérer aux principes éthiques de volontariat et de bénévolat, incluant l'absence de compensation horaire autre que la récupération médicalement nécessaire et l'absence de bénéfice secondaire attendu, sous quelque forme que ce soit (test de dépistage, collation).

L'application et la gestion de ces dispositions sont contrôlées régulièrement lors des inspections sanitaires réalisées par l'Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé (ANSM).

Étapes du don

Quels que soient le lieu et le type de don, quatre étapes sont nécessaires à sa réalisation.

Accueil

C'est la phase d'enregistrement du donneur et de préparation à l'entretien pré-don. La réglementation impose la lecture d'un certain nombre d'informations visant à porter à la connaissance du candidat au don les éléments nécessaires à un consentement éclairé, mais également à la compréhension des enjeux de sécurité transfusionnelle liés à la qualité des données de l'entretien pré-don.

Un questionnaire médical est rempli par le candidat au don. La forme et le contenu de ce questionnaire sont définis par une décision du directeur général de l'ANSM, parue au *Journal officiel de la République française*.

Entretien pré-don

En France, depuis plus de vingt ans, l'entretien pré-don est réalisé par un médecin qualifié ayant suivi une formation complémentaire (diplôme de médecine du don). La réglementation, modifiée en 2014, ouvre la possibilité de faire réaliser certains de ces entretiens pré-don par des infirmières diplômées d'État. Cette organisation sera évaluée en 2017, après une expérimentation à l'échelon national. Les autres diplômes universitaires sont également validant pour l'activité de collecte.

Les critères de sélection des donneurs sont définis par arrêté ministériel révisé chaque année. Ils font l'objet d'une harmonisation à l'échelon européen, sur la base d'une directive publiée en 2004.

L'objectif de l'entretien pré-don est de cibler les situations présentant un risque de mauvaise tolérance du prélèvement (pour la sécurité du donneur) ou un risque transfusionnel (pour la sécurité du receveur). La prévention d'un risque transfusionnel concerne surtout la réduction des infections post-transfusionnelles. Cette étape demeure importante pour garantir le plus haut niveau de sécurité des produits sanguins. Le suivi de son efficacité fait l'objet d'une évaluation régulière par l'Institut de veille sanitaire (InVS), à partir de l'analyse des informations obtenues lors des consultations des donneurs dépistés positifs pour l'un des marqueurs de maladies transmissibles recherchés sur chaque don.

La sécurité du donneur repose sur :

- la prévention d'une anémie (ou son aggravation) par le contrôle du taux d'hémoglobine avant le don ;
- la prévention d'une décompensation cardiovasculaire, par la mesure de la pression artérielle et la recherche d'antécédents cardiovasculaires ;
- la prévention d'une complication hémorragique locale par la recherche d'antécédents personnels de coagulopathies ;
- la prévention de l'aggravation d'une pathologie chronique, évolutive, et susceptible d'être décompensée par le prélèvement d'un volume sanguin qui peut atteindre 16 % du volume circulant pour un don de plasma ;
- la prévention d'une réaction allergique, dans l'hypothèse où l'allergène serait utilisé dans le processus de prélèvement (par exemple, l'oxyde d'éthylène).

La sécurité du receveur repose sur :

- la prévention de la transmission d'agents bactériens par la recherche d'un épisode fébrile ou d'une infection avérée dans l'histoire récente du candidat au don. Un délai de 2 semaines est requis après une fièvre supérieure à 38°C ;
- la prévention de la transmission d'agents viraux, par la recherche d'une exposition à un risque d'infection ; elle vise à éviter le prélèvement d'un

donneur dans une situation où le virus ne serait pas détecté par les examens biologiques de la qualification du don :

- pour les principaux virus transmissibles par le sang, cela pourrait correspondre à deux types de situations :
  - la première correspondrait à la non-détection d'un virus dépisté par les examens réglementaires : une contamination récente (période de silence biologique) ou une infection par un virus variant. La prévention de la transmission de ces agents repose donc sur l'identification des sujets particulièrement exposés à ces infections. L'entretien recherche systématiquement des comportements à risque récents : partenaire occasionnel, nombre de partenaires, relations sexuelles non protégées, comportement à risque ou séropositivité du partenaire. En raison de la forte prévalence de certaines infections transmissibles par le sang (VIH, virus de l'hépatite B, syphilis) au sein de cette population, les relations sexuelles entre hommes constituent une contre-indication permanente au don du sang ;
  - la seconde situation correspondrait à un virus pour lequel aucun test de dépistage n'est réalisé. Elle conduit à prendre certaines mesures temporaires dès la déclaration de foyers épidémiques pour certaines infections (*West Nile Virus*, chikungunya, etc.). Ces mesures reposent essentiellement sur des critères géographiques, avec un ajournement temporaire après le séjour dans une zone endémique ; la dengue se surajoute désormais au *West Nile Virus* et au Chikungunya ;
- certaines mesures visent à limiter la transmission d'un agent transmissible par le sang dès le début de son émergence. Elles sont fondées sur le principe de précaution en écartant du don du sang des personnes exposées à un risque majeur de transmissions d'un agent pathogène par voie sanguine. Un antécédent d'usage de stupéfiants ou de produits dopants par voie intraveineuse, un antécédent d'allogreffe, de xénogreffe ou de transfusion par des produits sanguins labiles constituent une contre-indication permanente au don ;
- l'entretien recherche enfin des situations d'exposition au sang dans les quatre derniers mois, comme un piercing, un tatouage, une exposition nosocomiale ou un accident d'exposition au sang (professionnel ou non) : ces ajournements temporaires visent la prévention de la transmission du virus de l'hépatite C ;

• la prévention de la transmission d'agents parasitaires repose sur la recherche d'antécédents de parasitoses susceptibles d'être transmises par voie sanguine (paludisme, toxoplasmose, trypanosomiase américaine, leishmaniose, babésiose), un ajournement du don de 4 mois après un séjour en zone d'endémie palustre ou chagasique, et la prescription de tests sérologiques spécifiques à l'issue de ce délai ;

• la prévention de la transmission des prions est une préoccupation sanitaire majeure depuis l'émergence du variant de l'agent de la maladie de Creutzfeldt-Jakob, secondaire à l'épizootie d'encéphalopathie spongiforme bovine ayant sévi entre 1980 et 1996. L'absence de test de dépistage sanguin et de techniques physico-chimiques d'élimination des prions impose le respect du principe de précaution dans l'identification des critères de contre-indication au don. En complément des mesures générales gérant l'émergence d'un risque infectieux, les situations suivantes représentent autant de contre-indications permanentes : séjours cumulés de plus d'une année dans les îles Britanniques entre 1980 et 1996, antécédent familial d'encéphalopathie spongiforme subaiguë transmissible, traitement par hormone de croissance extractive avant 1989, intervention neurochirurgicale ou ophtalmique avant le 1er avril 2001 ;
• certaines dispositions complémentaires relèvent également du principe de précaution : traitement par molécules à effet tératogène démontré, désensibilisation par voie sous-cutanée, antécédent de néoplasie ;
• la qualité des produits sanguins requiert enfin la recherche de certaines informations : consommation récente de traitement à effet antiagrégant plaquettaire, antécédents personnels de pathologies des cellules sanguines ou d'anomalies de la coagulation ;
• l'hémochromatose génétique n'est pas une contre-indication au don. Cependant, afin de garantir le respect des règles de volontariat et l'absence de bénéfice secondaire, la transformation de l'indication de déplétion sanguine en don de sang n'est autorisée que dans un centre de santé de l'EFS ou du CTSA. Toutes les autres conditions du don doivent être respectées, en dehors des limitations d'intervalle et de fréquence des prélèvements.

Don du sang et homosexualité masculine

Le très haut niveau de sécurité de la transfusion sanguine dans les pays industrialisés conduit désormais à un effet inattendu il y a encore quelques années : les critères épidémiologiques de participation au don du sang, lorsqu'ils touchent à la vie privée et aux modes de vie, sont de plus en plus contestés. Il est souvent nécessaire de rappeler que, d'une part, les produits sanguins ne peuvent pas encore bénéficier de techniques d'élimination totale des virus, et que, d'autre part, les tests de dépistage ne peuvent pas détecter une contamination récente. Le risque résiduel de contaminer un malade par le VIH lors d'une transfusion est infime, de l'ordre d'un cas par an.

Depuis 2002, trois directives européennes ont été publiées, qui ont pour objet de définir les règles de sécurité minimales dans les pays de l'Union européenne.

▷

Celle de 2004 comporte une annexe qui définit les critères minimaux de sélection des donneurs à mettre en œuvre pour assurer la sécurité transfusionnelle. Une partie de ce texte évoque les risques d'infection transmissible par transfusion. Elle prévoit notamment deux types de contre-indication à mettre en œuvre :

- la première concerne « les personnes dont le comportement sexuel ou l'activité professionnelle expose au risque de contracter des maladies infectieuses graves transmissibles par le sang » : cette contre-indication est temporaire ;
- la seconde concerne « les personnes à haut risque de maladie transmissible par le sang » : c'est une contre-indication permanente.

Chaque pays de l'Union européenne a dû traduire ces directives dans son droit national et interpréter ces deux situations en fonction de ses propres données épidémiologiques.

En France, l'analyse annuelle des découvertes de séropositivité VIH analysées par l'Institut de veille sanitaire (InVS) montre que l'incidence des infections à VIH est 200 fois plus élevée au sein de la population homosexuelle masculine, comparativement à la population hétérosexuelle française. La prévalence de l'infection à VIH atteint 18 % dans des lieux de rencontre gays parisiens (enquête Prévagay, 2009) *versus* 0,2 % dans la population générale. Ces données ont conduit les autorités de tutelle à maintenir l'ajournement permanent du don du sang des hommes ayant eu des relations sexuelles avec des hommes.

Pourtant, cette mesure mal comprise et mal acceptée est contournée. Entre 2005 et 2008, la moitié des séroconversions VIH découvertes à l'occasion d'un don de sang concernaient des donneurs ayant reconnu la pratique de relations homosexuelles, mais uniquement à l'annonce de la séropositivité. Ce constat inquiète car ces séroconversions chez des sujets homosexuels pèsent pour 50 % dans le calcul du risque résiduel actuel de transmission du VIH sur cette période.

Un débat d'experts porte sur les conséquences d'une ouverture du don du sang aux homosexuels : conduirait-elle à une augmentation du risque de contamination ? ou, au contraire, à une meilleure adhésion aux contraintes de sécurité des transfusés ? Ce débat est aujourd'hui sur la place publique et les intervenants sont multiples : médecins, politiques, associations identitaires, associations de malades, représentants de la société civile, simples citoyens. Il faudra trouver la meilleure issue possible pour le million de patients dont la vie dépend des produits issus du sang.

En 2002, le Comité consultatif national d'éthique rappelait qu'une institution chargée de la collecte du sang devait prendre garde à ne pas stigmatiser une population dans ses pratiques et dans ses documents de promotion du don ; il rappelait dans le même avis que le don du sang n'est pas un droit, mais une forme de devoir d'assistance, intégrant les obligations vis-à-vis de la personne assistée.

L'attitude des autorités de tutelle n'est pas une constante internationale ou européenne mais varie en fonction de l'évolution de la Société et des prises de positions politiques.

Prélèvement

Les points critiques à maîtriser lors de l'acte de prélèvement sont :
- l'identification des tubes échantillons et des compartiments qui contiendront les différents produits sanguins, par un numéro dont l'unicité est garantie sur le plan national. Ce numéro sera le support de la traçabilité des produits sanguins issus du don ;
- la prévention de l'introduction, dans le produit sanguin, de bactéries de la flore cutanée au moment de la ponction. Cette étape repose sur une procédure rigoureuse de désinfection du site de ponction et sur la maîtrise du risque bactérien au niveau de l'environnement proximal de l'acte (antisepsie des mains, règles d'hygiène, nettoyage du matériel). Tous les dispositifs de prélèvement disposent d'un circuit de dérivation des quarante premiers millilitres prélevés vers une poche de recueil. Cette mesure réduit significativement le risque de contamination bactérienne du sang recueilli pour la préparation des produits sanguins ;
- un document d'information post-don est remis à chaque donneur. Il invite ce dernier à signaler tout événement nouveau remettant en cause la qualité des produits sanguins issus du don et survenant dans les deux semaines suivantes. Cette mesure vise à bloquer les produits sanguins prélevés en période d'incubation d'une infection bactérienne.

Surveillance post-don

Agrémentée d'une collation, cette étape permet de s'assurer de la bonne tolérance du prélèvement.

Différents types de dons

On distingue encore actuellement deux types de dons : le don de sang total et le don par aphérèse (tableaux 1.1 et 1.2).

Le don de sang total correspond au prélèvement de 480 ml de sang veineux et permet la préparation d'un concentré de globules rouges, d'une unité de 300 ml de plasma et d'un concentré de plaquettes standard.

Le don par aphérèse permet le prélèvement de tous types de produits sanguins : concentré de globules rouges, plasma, plaquettes, granulocytes. L'avantage de la technique d'aphérèse réside dans l'obtention d'un composant sanguin prélevé en plus grande quantité, avec obtention de ces produits à partir d'un seul donneur, que l'on peut éventuellement sélectionner en fonction d'une compatibilité immunologique avec le receveur (aphérèse

Tableau 1.1. Critères réglementaires d'aptitude au don.

Critères réglementaires d'aptitude au don	Âge minimal	Âge maximal	Poids ou VST minimal	Volume maximal prélevé	Durée moyenne	Fréquence annuelle maximale*	Critères biologiques réglementaires
Sang total	18 ans	70 ans	50 kg	500 ml sans dépasser 13 % du VST	10 min	H : 6 F : 4	Hémoglobine : – H : ≥ 13 g/dl – F : ≥ 12 g/dl
Plasma		65 ans	50 kg	750 ml sans dépasser 16 % du VST	45 min	24	Hémoglobine** : – H : ≥ 13 g/dl – F : ≥ 12 g/dl Protides ≥ 60 g/l
Plaquettes *ou* Plaquettes + plasma		65 ans	50 kg	650 ml sans dépasser 13 % du VST	75 min	12	Protides ≥ 60 g/l Plaquettes ≥ 150 G/l Hémoglobine : – H ≥ 13 g/dl – F ≥ 12 g/dl
Granulocytes		50 ans	50 kg	650 ml sans dépasser 13 % du VST	120 min	2***	TP et TCA normaux Hémoglobine : – H ≥ 13 g/dl – F ≥ 12 g/dl

▷

Critères réglementaires d'aptitude au don	Âge minimal	Âge maximal	Poids ou VST minimal	Volume maximal prélevé	Durée moyenne	Fréquence annuelle maximale*	Critères biologiques réglementaires
Globules rouges		65 ans	VST ≥ 5 litres	450 ml	30 min	H : 3 F : 2	Hémoglobine ≥ 14 g/l Ferritine > 20 ng/ml
Concentré érythrocytaire et plasma		65 ans	50 kg	650 ml sans dépasser 13 % du VST	30 min	H : 6 F : 4	Hémoglobine : – H : ≥ 13 g/dl – F : ≥ 12 g/dl Protides ≥ 60 g/l
Concentré érythrocytaire et plaquettes		65 ans	50 kg	650 ml sans dépasser 13 % du VST	75 min	H : 6 F : 4	Hémoglobine : – H ≥ 13 g/dl – F ≥ 12 g/dl Plaquettes ≥ 150 G/l Protides ≥ 60 g/l

VST, volume sanguin total.

* Un même donneur peut associer différents types de dons, sans dépasser vingt-quatre dons annuels dans le respect des limites fixées pour chaque type de dons.

** Pour le don de plasma, une dérogation médicale est possible pour des valeurs comprises entre 11 et 12 g/dl (chez la femme) ou entre 12 et 13 g/dl (chez l'homme).

*** Dans des situations immunologiques particulières, le nombre de dons peut être porté à quatre.

Tableau 1.2. **Intervalles entre deux dons (semaines).**

			Don suivant							
			Sang total	Don d'aphérèse simple				Don d'aphérèse combinée		
				CPA	Plasma	Globules blancs	Aphérèse simple de globules rouges	Plaquettes + plasma	Plaquettes + globules rouges	Plasma + globules rouges
Don précédent	Sang total		8	4	2	4	8	4	8	8
	Don d'aphérèse simple	CPA	4	4	2	4	4	4	4	4
		Plasma	2	2	2	2	2	2	2	2
		Granulocytes	4	4	2	4	4	4	4	4
		Aphérèse de globules rouges	16	4	2	4	16	4	16	16
	Don d'aphérèse combinée	Plaquettes + plasma	4	4	2	4	4	4	4	4
		Plaquettes + globules rouges	8	4	2	4	8	4	8	8
		Plasma + globules rouges	8	4	2	4	8	4	8	8

CPA, concentré de plaquettes d'aphérèse.

de globules rouges, de plaquettes ou de granulocytes). Le don de plasma par aphérèse assure également l'approvisionnement complémentaire nécessaire au fractionnement des protéines plasmatiques (albumine, immunoglobulines, fractions coagulantes) — le plasma issu des dons de sang total ne suffit pas à répondre à l'évolution de ce besoin.

Hémovigilance et don du sang

Les donneurs font l'objet d'une surveillance sur divers aspects de la sécurité du don ou de la transfusion. En effet, certains événements indésirables peuvent survenir à l'occasion d'un don. Ces incidents peuvent être locaux (hématome, lésion nerveuse, ponction artérielle, plus exceptionnellement veinite ou thrombose) ou généraux (malaise vagal, syncope avec risque traumatique, tétanie liée à la réinjection de citrate en aphérèse). Les accidents les plus graves pourraient être liés à une réaction anaphylactique chez un donneur sensibilisé à l'oxyde d'éthylène, à la révélation d'une pathologie cardiovasculaire méconnue ou à une intoxication massive au citrate. Les événements indésirables sévères survenant à l'occasion d'un don sont déclarés à l'ANSM.

Les donneurs chez lesquels un marqueur d'agent transmissible est découvert positif à l'occasion d'un don sont revus en consultation par un médecin de l'établissement de transfusion. À cette occasion, diverses informations sont recueillies, relatives au mode de transmission probable de l'agent infectieux en cause. Ces informations sont transmises à l'InVS pour analyse : ce suivi épidémiologique assure une veille sur le mode de sélection des donneurs et permet de mesurer chaque année le risque résiduel de transmettre une infection virale par transfusion pour le VIH, le VHB, le VHC et l'HTLV-I.

1.2 Préparation des produits sanguins labiles

Définition

Aujourd'hui, la thérapeutique transfusionnelle repose sur l'utilisation de produits sanguins labiles (PSL) obtenus après des étapes dites de « préparation des PSL ». Ces étapes visent à concentrer le principe actif et à n'apporter au malade que ce dont il a besoin.

L'emploi du sang total comme produit à usage transfusionnel est encore largement répandu dans les pays en voie de développement. Cependant, son efficacité est limitée et il n'est pas à même de répondre avec toute l'efficacité souhaitée aux attentes de la transfusion, qui cherche à assurer

le transport de l'oxygène dans les anémies ou à corriger les troubles du saignement et/ou de la coagulation.

Offrir aux patients le composé du sang, « concentré », dont il a besoin est aujourd'hui possible. L'obtention des PSL par des méthodes de préparation permet de préserver les qualités de chaque composé du sang grâce à la mise en œuvre de techniques de recueil, de sélection, de purification et de conservation propres à chacun d'entre eux.

Obtenir plusieurs produits sanguins à partir d'un don de sang s'inscrit en outre dans une démarche éthique d'autosuffisance en PSL et de valorisation du don. Ainsi, à partir d'un don de sang total pourront être extraits un concentré de globules rouges, une couche leuco-plaquettaire qui entrera dans la composition d'un mélange de concentré de plaquettes, et un plasma qui entrera dans la composition des médicaments dérivés du sang.

Les conditions de conservation des PSL obtenus permettent leur transport et garantissent leur disponibilité en quantité et en qualité, par la constitution de réserves disponibles au plus proche des établissements qui le nécessitent et donc des malades.

L'Établissement français du sang (EFS) assure sur ses plateaux techniques la préparation des PSL.

Cette activité, encadrée par une réglementation stricte, doit répondre à des règles de *bonnes pratiques transfusionnelles* et au respect des caractéristiques des PSL. Chaque plateau technique satisfait à des normes de qualité et est certifié *a minima* ISO 9001-V2000.

L'activité de préparation des PSL s'intègre dans la chaîne transfusionnelle entre le prélèvement et la distribution des produits.

Elle dépend en amont du prélèvement (quantité et qualité des produits prélevés) et, en aval, des activités de distribution et de délivrance. Parallèlement à la préparation, l'activité de qualification biologique du don s'intègre dans la chaîne au même niveau (chronologique) et vient en appui de la préparation en tant que composante de la validation de conformité des PSL (figure 1.1).

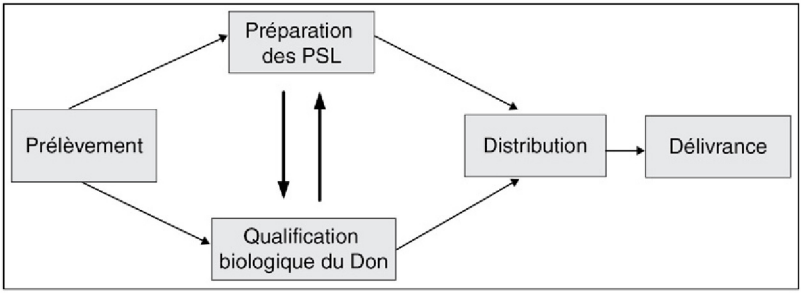


Figure 1.1. La chaîne transfusionnelle.

Les objectifs à atteindre sont schématiquement :

- l'obtention d'une quantité en principe actif suffisante et optimale pour un usage transfusionnel par poche (quantité d'hémoglobine, quantité de plaquettes, concentration en protéines et en facteur de coagulation) ;
- la préservation de la viabilité et de l'activité de ce principe actif, par la réduction des altérations due aux stockages ;
- la prévention du risque de contamination et de prolifération des agents pathogènes.

La standardisation des techniques, la maîtrise des procédés de préparation sont les moyens d'obtenir une production homogène à partir de dons.

Méthodes de préparation

La démarche de préparation des PSL est fondée sur la réalisation de processus divergents qui, à partir d'une matière première, permettent d'obtenir les produits finis, ce qui peut être opposé à la fabrication de médicaments, lesquels mettent généralement en œuvre des processus convergents nécessitant l'association de matières premières pour la fabrication de produits finis.

L'obtention des composés sanguins spécifiques peut s'effectuer par des techniques d'aphérèse qui consistent à séparer les composants du sang au cours même du prélèvement et donc préparer directement et en un seul temps les composés sanguins. L'aphérèse fait appel à des matériels nommés séparateurs de cellules. Il est ainsi possible de réaliser par aphérèse un plasma associé soit à un concentré de plaquettes soit à un concentré de globules rouges, ou encore, un concentré de globules rouges et un concentré de plaquettes ou simplement l'un des trois produits à partir du prélèvement de sang total recueilli au pli du coude du donneur. Les produits issus de cette technique possèdent une quantité de principes actifs suffisante pour être utilisée directement en thérapeutique transfusionnelle.

Le plasma issu d'aphérèse est la source unique de matière première permettant la préparation de plasma viro-atténué.

Une autre possibilité consiste à prélever le sang total, les PSL étant obtenus dans un second temps, après mise en œuvre des procédés de préparation.

Principaux procédés utilisés en préparation des PSL

Dispositif de prélèvement du sang total à usage unique

Bien qu'il ne soit pas à proprement parler un procédé de préparation à part entière, le dispositif de prélèvement à usage unique revêt une importance capitale dans la préparation des PSL. Il permet grâce à sa configuration et à ses qualités de :

- réaliser les étapes de préparation (poches plastiques déformables) ;
- assurer la fabrication des produits sans rompre le système clos ;
- réaliser les étapes de déleucocytation « en ligne » ;
- orienter la préparation de produits en fonction de sa configuration ;
- réaliser des étapes de transformations (ajout de solutions de conservations entre autres) ;
- aider à la conservation des produits (plastique « plaquettes ») ;
- simplifier les étapes de stockage et de transport des produits.

Deux configurations sont principalement utilisées :

- l'une intègre un filtre permettant la déleucocytation du sang total, puis la préparation d'un concentré globulaire déleucocyté et d'un plasma déleucocyté ;
- l'autre permet après séparation des composés sanguins par les procédés de préparation, la filtration et l'obtention d'un concentré globulaire et d'un plasma déleucocyté ainsi qu'une poche de couche leuco-plaquettaire.

Quel que soit le système, une solution de conservation est systématiquement ajoutée au concentré globulaire.

Centrifugation

La centrifugation est un procédé physique utilisé pour accélérer la séparation d'éléments ou de phases grâce aux différences de densité, de forme et de masse des constituants soumis au champ centrifuge.

La vitesse de migration d'une particule dans un liquide va être influencée principalement par la densité de la particule et sa forme, la densité du liquide, la température, la force centrifuge relative.

On réalise, par une opération mécanique, la séparation de phases de densités différentes pouvant ensuite être récupérées.

La force centrifuge relative (*g*), les temps d'accélération, de plateau, de freinage, les pentes et seuils de freinage ou d'accélération ou des valeurs d'intégrales de centrifugation sont autant de paramètres pour réaliser, d'une façon reproductible et précise, la séparation des éléments figurés du plasma dans une poche de sang total (tableau 1.3).

On définit deux grands types de centrifugation :

- centrifugation de type « dure » qui sépare, à partir du sang total, le plasma des hématies et, à l'interface de ces deux phases, une fine couche constituée des leucocytes et thrombocytes (couche leuco-plaquettaire). Dans ce cas de figure, un champ centrifuge et des accélérations élevées sont appliqués aux cellules sanguines ;
- centrifugation de type « douce », qui met en jeu des accélérations et un champ centrifuge relativement faible. Ce type de centrifugation permet d'obtenir à partir d'une poche de sang total : un concentré globulaire et un plasma riche en plaquettes. Actuellement, ce type de centrifugation est utilisé essentiellement pour l'obtention en solution (plasma ou liquide de conservation) des concentrés de plaquettes (tableau 1.4).

Tableau 1.3. **Obtention des PSL en fonction de critères de centrifugation.**

	Volume moyen (10^{15}/l)	Diamètre (µm)	Densité (g/ml)
Plasma			1,026
Plaquettes	9	2-4	1,058
Leucocytes	230-470	7,5-30	1,062-1,089
Érythrocytes	87	7	1,100

Tableau 1.4. **Obtention de différents PSL selon le type de centrifugation.**

Centri-fugation	Vitesse (t/min)	g	Durée Accélération + Plateau (min, sec)	Freinage (min, sec)	Exemple de produits obtenus
« Dure »	3 900	5 000	12'30	2'30	Concentré de globules rouges Plasma Couche leuco-plaquettaire
« Douce »	1 300	600	15'00	7'10	Concentré de globules rouges Plasma riche en plaquettes et/ou Mélange de concentré de plaquettes

Séparation ou décantation des produits sanguins

Cette étape succède à la centrifugation et a pour objectif de séparer physiquement les différents constituants du sang en autant de poches de recueil. À partir d'une poche de sang total, il est possible d'obtenir en fonction du type de prélèvement réalisé : une poche de plasma, une poche de concentré de globules rouges et, potentiellement, une poche de couche leuco-plaquettaire.

Cette étape est aujourd'hui réalisée grâce à des appareils semi-automatiques, leur fonction étant multiple. Ils séparent et recueillent les constituants du sang après centrifugation sans rompre le système clos, mais aussi ajoutent automatiquement une solution de conservation sur les concentrés globulaires. Ils permettent aussi l'obtention de poches de couches leuco-plaquettaires standardisées en termes de volume, d'hématocrite et de quantité d'hémoglobine résiduelle et, de fait, permettent d'envisager l'obtention à large échelle de mélanges de concentrés de plaquettes déleucocytés (MCPSD).

Déleucocytation des produits sanguins labiles

L'objectif est d'éliminer aseptiquement la majeure partie des leucocytes par filtration. Cette opération met en œuvre un matériau filtrant pour une rétention sélective des leucocytes en préservant les éléments cellulaires ou plasmatiques.

En France, la déleucocytation est réalisée systématiquement sur tous les produits cellulaires depuis 1998 et depuis 2001 pour les produits plasmatiques. Les normes (caractéristiques des PSL) précisent que le taux de leucocyte résiduel ne doit pas dépasser 1×10^6 pour les produits sanguins homologues cellulaires pour au moins 97 % de la production, et 1×10^6 par litre pour le plasma destiné au fractionnement et 1×10^4 par litre pour le plasma à usage thérapeutique pour au moins 95 % de la production.

En dehors du fait que la présence de leucocytes dans les PSL peut accentuer les lésions de conservation des globules rouges et des plaquettes, l'intérêt de la déleucocytation est lié au fait que, sur le plan clinique, les leucocytes peuvent être à l'origine de nombreux effets iatrogènes : réactions d'intolérance immédiate à type de frissons-hyperthermie, transmission directe de microorganismes variés (virus, bactéries), réactivation virale chez le receveur, stimulation allogénique dans les systèmes de groupes sanguins portés par les leucocytes, réaction du greffon contre l'hôte (GVH) aiguë chez les receveurs immunodéprimés, état d'immunosuppression post-transfusionnelle. Les bénéfices attendus de la déleucocytation sont par conséquent multiples : pour prévenir l'allo-immunisation anti-HLA et les réactions de type frissons-hyperthermie, réduire le risque d'apparition d'état réfractaire aux transfusions de plaquettes, améliorer la survie du greffon après transplantation d'organe, prévenir la transmission du risque viral (CMV, EBV, HTLV), prévenir le risque bactérien (*Yersinia entercolitica*).

De nombreuses techniques ont été développées pour éliminer les leucocytes des PSL. Des méthodes fondées sur des techniques de centrifugation, de sédimentation, centrifugation-lavage, congélation-décongélation et filtration ont été pratiquées avec plus ou moins de résultats. Actuellement, les techniques de filtration sont majoritairement employées. Elles sont en effet adaptées à une utilisation à large échelle et ont prouvé leur capacité à produire des PSL répondant aux caractéristiques en vigueur. On distingue la filtration en profondeur et la filtration écran :

- la filtration en profondeur est adaptée à la déleucocytation des produits cellulaires. Le média filtrant est constitué généralement d'un maillage de fibres non tissées (polyester) ou de couches de matériaux semi-poreux (polyuréthane). La structure des médias filtrants (fibres fines) permet d'augmenter la surface du média ce qui favorise la liaison des leucocytes en optimisant les pertes en cours de filtration. Les filtres à déleucocyter sont généralement constitués de préfiltres de texture grossière assurant la rétention des « gels » générés en cours de conservation (leucocytes dégénérés, lipides insolubles),

de filtres moyens de texture fine (rétention des grosses particules et micro-agrégat), de filtres fins de texture très fine (rétention des leucocytes libres). Il s'agit de mécanismes physiques (interception des leucocytes sur la fibre, phénomène de tension de surface, densité de charge) et de mécanismes d'ordre biologique (adhérence cellulaire, interaction cellule-cellule). Ils s'expriment lors de la filtration des concentrés de globules rouges ou du sang total par un piégeage passif des leucocytes, une adhérence directe des leucocytes aux fibres du filtre et une adhérence directe des plaquettes aux fibres qui, en s'activant, interagissent et piègent les leucocytes (granulocytes). Un traitement de surface du média filtrant permet la réalisation de filtres adaptés à la déleucocytation des concentrés de plaquettes ;

- la filtration « écran » est adaptée à la déleucocytation du plasma. Le filtre est constitué d'une membrane dont la taille de pores permet le passage des protéines plasmatiques en retenant les cellules présentes dans le plasma. On obtient alors un plasma répondant aux caractéristiques en termes de globules rouges, plaquettes et leucocytes résiduels.

La filtration pour déleucocytation est une étape « sensible » lors de la préparation des PSL. Des paramètres tels que l'âge du produit, les débits, la température de filtration, l'amorçage, le rinçage doivent être maîtrisés.

Congélation du plasma

Cette opération unitaire de production s'adresse principalement aux plasmas issus de sang total ou d'aphérèse. C'est une étape critique dans la conservation de certains facteurs de coagulation, comme le facteur VIII.

Ce procédé met en œuvre des équipements électriques et des fluides cryogéniques. La vitesse de refroidissement doit être aussi rapide que possible. À titre d'exemple, on admet qu'une température de – 30°C au cœur d'un plasma, atteinte en moins de 60 minutes, permet de conserver la qualité du plasma.

Atténuation virale et bactérienne des PSL

Les techniques d'inactivation des agents pathogènes dans les PSL apparaissent comme la nouvelle stratégie de sécurité transfusionnelle face au risque infectieux. Différentes techniques sont en cours de développement ou déjà validées et utilisées en France, mais elles ne s'appliquent qu'aux plasmas ou aux concentrés plaquettaires. Les mécanismes d'action ainsi que l'efficacité d'inactivation et d'atténuation des agents pathogènes varient selon les techniques. Chacune constitue un procédé composé d'opérations unitaires dont il faut s'assurer de la maîtrise afin de garantir la qualité et l'efficacité transfusionnelle du produit traité.

Il est à noter que, désormais, en France, les préparations à base de bleu de méthylène ne sont plus fabriquées ni utilisées.

Mécanismes d'action des méthodes d'inactivation des agents pathogènes dans les PSL

Le principe de toutes techniques d'inactivation est d'utiliser un agent inactivant capable de détruire ou de réduire la charge infectieuse d'agents pathogènes présents dans le PSL qu'ils soient intracellulaires ou extracellulaires. Ces techniques d'inactivation doivent, de plus, éviter toutes altérations chimiques ou biologiques significatives des produits thérapeutiques. Ainsi, leur efficacité repose sur la destruction ciblée d'un élément fonctionnel de l'agent pathogène, cet élément étant absent ou n'intervenant pas dans la fonctionnalité du composé sanguin.

La plupart des techniques d'inactivation utilisent des agents ayant pour cible les membranes ou les enveloppes des agents pathogènes ou leurs acides nucléiques.

Les molécules détruisant les membranes ou les enveloppes (telles que les solvants organiques et détergents) ne peuvent être utilisées que pour les produits acellulaires et sont inefficaces contre les virus non enveloppés. Les agents aux mécanismes d'action ciblés sur les acides nucléiques (tels les produits chimiques photosensibles ou les agents alkylants) ont un spectre d'utilisation potentiellement plus large. Les synthèses fonctionnelles par blocage de la transcription et de la translation ainsi que la prolifération par blocage de la réplication des agents microbiens présents sont stoppées sans altérer pour autant les membranes des produits cellulaires thérapeutiques. Ainsi, la plupart des agents pathogènes comme les virus, les bactéries, les champignons ou les parasites, ainsi que les leucocytes du donneur peuvent être détruits. De telles techniques d'inactivation, agissant sur l'intégrité des acides nucléiques, doivent également assurer une absence de toxicité des produits transfusés. À moins que l'agent inactivant utilisé ne soit inoffensif pour la santé humaine à diverses doses d'exposition, les quantités résiduelles du produit doivent être éliminées ou réduites ou transformées en produits secondaires inoffensifs.

De manière générale, l'évaluation de l'inactivation virale repose sur la quantification de la charge virale avant et après application du procédé. En pratique, l'atténuation virale est exprimée en « log déplétion », la charge virale avant et après traitement étant notée sur une échelle logarithmique. C'est ainsi qu'on parle d'une inactivation de 6 log lorsque, pour une charge virale d'un milliard (10^9) de particules virales/ml avant traitement, on détecte moins de 1 000 (10^3) particules virales/ml après traitement.

Techniques photochimiques

Elles utilisent une molécule photosensible et un rayonnement électromagnétique. Sous l'action de ce rayonnement, la molécule est transformée en un photoproduit qui agit de manière irréversible sur les acides nucléiques. Leur mode d'action varie en fonction des techniques.

Amotosalen-HCl + UVA (technique Intercept®)

Cette technique d'inactivation est utilisable sur les concentrés plaquettaires et le plasma. L'amotosalen-HCl est une molécule appartenant à la famille des psoralènes. Ce sont des composés actifs d'origine végétale connus depuis longtemps comme molécules photosensibles. Du fait de leurs structures planes et de leurs faibles poids moléculaires, la pénétration de ces molécules à travers les membranes plasmiques est facilitée. L'amotosalen-HCl a pour propriété de se fixer au niveau de la région hélicoïdale des acides nucléiques double brins ou simple brin et s'intercale entre les bases azotées pyrimidiques. Une exposition au rayonnement de type UVA (320-400 nm) déclenche une réaction photochimique, laquelle fixe par liaison covalente les molécules photo-activées aux bases pyrimidiques. Les doubles brins et les simples brins d'acides nucléiques se trouvent dès lors fixés entre eux par de multiples liaisons covalentes (une liaison toutes les 83 paires de bases). Les photoproduits de la réaction sont rapidement expulsés de ces structures macromoléculaires. Une incubation prolongée avec un composé adsorbant (4-6 heures) permet d'éliminer l'amotosalen résiduel, ainsi que les photoproduits secondaires.

L'amotosalen-HCl se fixe également sur les lipides et les protéines. Environ 15 % de l'amotosalen-HCl initial se fixe sur les protéines plasmatiques et les plaquettes, même après avoir effectué la réduction de l'amotosalen résiduel et des photoproduits, la majorité de l'amotosalen étant lié aux lipides et 1 à 2 % aux protéines.

Du fait de l'activation de l'amotosalen-HCl par le rayonnement ultraviolet A, qui est absorbé par l'hémoglobine, cette technique ne peut s'appliquer aux concentrés de globules rouges, mais elle est efficace sur le plasma et les concentrés plaquettaires. Elle inactive un large spectre d'agents pathogènes (virus enveloppés et non enveloppés, bactéries, parasites) et les leucocytes résiduels : l'inactivation des lymphocytes T est en effet supérieure à 5 log et la technique dégrade plus de paires de base (une sur 83) que l'irradiation par rayonnement gamma (une sur 37 000).

Viro-atténuation du plasma par le bleu de méthylène

Le colorant bleu de méthylène est une phénothiazine. Il présente une affinité pour les acides nucléiques (paires guanine-cytosine). Après absorption d'énergie lumineuse, une réaction photodynamique produit des formes d'oxygène actives entraînant la dénaturation irréversible des acides nucléiques et de certaines protéines. La réplication et la transcription de l'ADN/ARN viral sont ainsi inhibées. L'enveloppe lipidique des virus enveloppés possède une haute affinité pour le bleu de méthylène. Le colorant, localement concentré, rend ces virus sensibles à la photo-inactivation. Le colorant n'étant pas actif sur les pathogènes intracellulaires, des stratégies de lyse cellulaire (congélation-décongélation) ou de déplétion cellulaire sont déployées. Ce produit est désormais interdit d'utilisation.

Technique biochimique : le plasma viro-atténué par solvant-détergent (PVA-SD)

La méthode d'inactivation virale par solvant-détergent (SD), utilisée depuis 1985 sur les produits dérivés du fractionnement plasmatique, a pu être appliquée au plasma thérapeutique, car elle s'est avérée très efficace dans l'inactivation des virus enveloppés. Depuis 1992, l'unité de production de Bordeaux fournit la France en PVA-SD. La démonstration de la viro-atténuation y est fondée sur des études de validation *in vitro* et des études *in vivo* chez le chimpanzé. Les agents infectieux utilisés pour la réalisation de ces études sont des virus représentatifs de la majorité des virus potentiellement impliqués ou ayant été impliqués dans les cas de transmissions virales transfusionnelles. Sur la base des études de validation, il apparaît que le processus de production du PVA-SD :

- est considéré comme très efficace sur les virus enveloppés potentiellement présents dans le plasma, notamment vis-à-vis du VIH-1/2, de l'HTLV-I/II, des virus de l'hépatite B et C et du CMV ;
- est sans action sur les virus nus. Cependant des essais ont montré que certaines étapes du processus (élimination des inactivateurs) s'accompagnent d'une élimination de certains agents infectieux. En outre, le mélange des plasmas entraîne la présence d'anticorps dans le produit, anticorps qui neutralisent certains agents infectieux, notamment des virus nus comme le VHA et le parvovirus B19 ;
- ne comporte pas de risque de transmission du parvovirus B19, la recherche des acides nucléiques de ce virus étant effectuée sur chaque plasma entrant dans la composition du pool ;
- élimine le risque de transmission du VHA, car la norme de la pharmacopée européenne concernant le titre d'anti-VHA neutralisant est constamment respectée avec les plasmas prélevés en France ($\geq$ 2 000 mUI/ml) ;
- élimine les bactéries, le processus de production incluant une filtration stérilisante.

Mise en œuvre des procédés de viro-atténuation sur les concentrés de plaquettes

La technique Intercept® a été validée par l'ANSM pour les concentrés plaquettaires d'aphérèse déleucocytés (CPAD-IA) et les mélanges de concentrés de plaquettes standards déleucocytés (MCPSD-IA), avec des caractéristiques définies au *Journal officiel*. Les CP, avant traitement, ont un contenu plaquettaire compris entre 2×10^{11} et 7×10^{11} plaquettes. Celles-ci sont en suspension dans une solution additive (Intersol) et le plasma résiduel est compris entre 32 et 47 %, évitant ainsi une fixation importante de l'amotosalen-HCl sur les protéines plasmatiques. Les rayonnements UV étant absorbés par l'hémoglobine, la concentration en globules rouges résiduels dans le concentré plaquettaire ne doit pas excéder 4×10^{6} hématies/ml, afin de garantir une illumination efficace. Un dispositif médical à usage

unique est connecté aux concentrés plaquettaires et permet d'effectuer les opérations unitaires du procédé Intercept® : addition de l'amotosalen-HCl, illumination, réduction de l'amotosalen résiduel, conservation. L'addition de 15 ml d'amotosalen-HCl 3 mM pour les concentrés plaquettaires de volume compris entre 255 et 325 ml, ou de 17,5 ml d'amotosalen-HCl 3 mM, s'effectue en transférant les concentrés plaquettaires dans la poche d'illumination. La concentration en amotosalen varie ainsi entre 130 et 166 μM, la concentration efficace étant comprise entre 120 et 180 μM. L'opération d'illumination s'effectue sous agitation et permet de délivrer par rayonnement UVA une dose énergétique comprise entre 3,2 et 4,0 J/cm^2, entre 3,5 et 4,3 J/cm^2. Deux concentrés plaquettaires sont traités pour un cycle d'illumination compris entre 4 et 6 minutes. L'amotosalen résiduel est ensuite éliminé par absorption au contact de billes absorbantes immobilisées dans une poche contenant le concentré plaquettaire. Cette opération s'effectue sous agitation et la durée minimale est de 6 heures, avec une durée maximale définie à 16 heures. La concentration d'amotosalen résiduel doit être inférieure ou égale à 2 μM. Le concentré plaquettaire issu de cette phase est mis dans une poche de conservation pour plaquettes jusqu'à transfusion.

En ce qui concerne les PSL cellulaires, il n'existe à ce jour aucun traitement validé en raison soit d'un défaut de maintien de l'intégrité des cellules lors des traitements mis en jeu, soit de la présence de plasma qui peut entraîner une gêne pour certains procédés — le plasma (non altéré) est cependant indispensable pour l'intégrité des cellules —, soit à cause d'un problème d'élimination de molécules actives, lesquelles peuvent être à l'origine de toxicité ou de mutagénicité.

Ajout d'une solution de conservation

La substitution de tout ou partie du plasma est réalisée lors de la préparation des PSL. La solution ajoutée permet la conservation des produits sanguins, tout en réduisant les lésions cellulaires lors de la conservation des concentrés globulaires ou des concentrés de plaquettes. Actuellement, la solution saline-adénine-glucose-mannitol (SAG-M) est la plus employée pour la conservation des concentrés de globules rouges. Pour les concentrés plaquettaires, des solutions dites de seconde génération sont validées et utilisées en France (solution contenant des acétates, un tampon et des ions).

Irradiation

Elle consiste à exposer un PSL cellulaire homologue à une source de rayonnements ionisants, dans le but de rendre impossible la prolifération des lymphocytes potentiellement présents et prévenir ainsi une complication redoutable : la réaction de greffon contre l'hôte transfusionnelle.

Étiquetage et libération des PSL (concentré érythrocytaire, plasma, concentré plaquettaire)

La conformité des PSL est attestée par une étape dite d'« étiquetage-libération ». Elle autorise la libération des produits pour leur utilisation. Les mentions portées par l'étiquette doivent être conformes à la réglementation en vigueur (caractéristiques des PSL). Un produit étiqueté est un produit pour lequel la conformité par rapport aux textes réglementaires est vérifiée et attestée.

Stockage et conservation des PSL

Les concentrés de globules rouges conservent au mieux leurs qualités lorsqu'ils sont conservés au froid. En solution de conservation additive saline-adénine-glucose et mannitol (SAG-M) et à une température comprise entre 2 et 6°C, les concentrés globulaires se conservent 42 jours après prélèvement. Les concentrés de plaquettes en solution additive se conservent en agitation lente et continue à une température comprise entre 20 et 24°C si elles sont contenues dans un plastique perméable à l'oxygène, au maximum 5 jours après prélèvement. Le plasma congelé stocké à une température inférieure à – 25°C (plasma thérapeutique) ou inférieure à – 30°C (plasma à destination du LFB) peut être conservé pour une durée maximale d'un an. Le PVA-IA peut être congelé dans les 18 heures au lieu des 8 heures antérieures ; de même, les normes ont évolué pour le facteur VIII et le fibrinogène.

Processus de préparation des PSL

Les processus de préparation des PSL aboutissent à l'élaboration et à la mise à disposition du clinicien de l'ensemble des PSL obtenus à partir d'un don de sang total, d'un don de cellules sanguines ou d'un don de plasma prélevé par aphérèse. Apporter à un malade un dérivé sanguin sous la forme la plus adaptée en concentration et en pureté, en quantité suffisante et avec une qualité optimale, est l'un des objectifs de l'activité de préparation des PSL.

Il y a désormais des solutions de conservation dans tous les mélanges de concentré de plaquettes.

Obtention de PSL à partir de prélèvement de sang total homologue

Les prélèvements de sang total sont réalisés sur un dispositif à usage unique, dont le choix est dépendant du type de produits finis souhaités (dispositif permettant la filtration du sang total pour l'obtention de concentré érythrocytaire et de plasma ; dispositif permettant la filtration du concentré érythrocytaire et du plasma pour obtention de concentré érythrocytaire + plasma + plaquettes), de l'organisation mise en place et du type de techniques habituellement utilisées en préparation, des performances du

dispositif, de sa validation opérationnelle (qualité au prélèvement, performances de déleucocytation).

L'acte de prélèvement influe sur la qualité des produits préparés. La ponction veineuse doit être franche pour limiter l'activation des facteurs plasmatiques. Le mélange des premiers millilitres de sang avec l'anticoagulant doit être soigneusement réalisé afin de prévenir la formation de caillots.

Le temps de prélèvement a une influence sur la qualité du plasma et sur la fabrication des plaquettes. Il est admis que si le temps de prélèvement d'une unité de sang total est supérieur à 15 minutes, le plasma sera déclassé (catégorie 2). S'il est supérieur à 12 minutes, les plaquettes ne seront pas extraites du don de sang total.

L'identification du prélèvement repose sur un numéro unique à chaque don.

La conservation du sang total avant préparation des PSL est effectuée avec le double objectif de maintenir la qualité des éléments sanguins et d'organiser leur traitement dans les délais les plus adaptés, afin de maintenir le niveau de 2,3-BPG, d'ADP, de conserver la flexibilité des érythrocytes, d'éviter l'altération du cytosquelette des plaquettes et de limiter au maximum la perte en facteur VIII. En pratique, la conservation du sang total dépend des délais avant traitement aux températures indiquées dans le tableau 1.5.

À partir d'une poche de sang total, les deux processus de préparation majoritairement utilisés en France se schématisent comme suit :

- *prélèvement réalisé sur un dispositif « sang total filtré »* : le sang total est filtré dans un délai aussi proche que possible du prélèvement et inférieur à 24 heures. Après filtration, le sang total est centrifugé puis décanté à l'aide d'un séparateur automatique. Au cours de cette opération, la solution additive et de conservation (SAG-M) est automatiquement ajoutée au concentré érythrocytaire déleucocyté. Après une étape automatisée de soudure des tubulures, les produits sanguins sont orientés soit vers la congélation pour le plasma déleucocyté, soit vers un stockage en chambre

Tableau 1.5. Durées et températures de conservation du sang total en fonction des composants qui en seront issus.

PSL issus du sang total	Délai avant traitement du sang total	Température de conservation du sang total
Concentré érythrocytaire et plasma	< 24 heures	+ 18 à + 24 °C
	24 heures < délai < 72 heures	+ 2 à + 6 °C
Concentré érythrocytaire + plasma + concentré plaquettaire standard ou couche leuco-plaquettaire	Impérativement < 24 heures	+ 18 à + 24 °C

froide à température positive pour le concentré érythrocytaire déleucocyté (2 à 6°C) (figure 1.2) ;

• *prélèvement réalisé sur un dispositif permettant d'extraire les plaquettes* : le traitement de ce type de prélèvement doit intervenir dans un délai maximal de 24 heures après la fin du prélèvement. Le sang total prélevé sur un dispositif équipé de deux filtres et cinq poches est placé en centrifugeuse. Après centrifugation, une étape de séparation-décantation permet de recueillir un concentré globulaire, un plasma et une poche de couche leuco-plaquettaire. La solution de conservation est ajoutée au concentré globulaire, qui est alors déleucocyté par filtration, ainsi que le plasma. La poche de la couche leuco-plaquettaire contenant 90 % des plaquettes du don est stockée à une température comprise entre 20 et 24°C ; le plasma déleucocyté est congelé ; le concentré globulaire déleucocyté est conservé à une température comprise entre 2 et 6°C (figure 1.3).

Les concentrés de globules rouges déleucocytés en solution additive SAG-M se conservent au minimum 42 jours à une température comprise entre 2 et 6°C. Ils doivent contenir moins de 1×10^6 leucocytes résiduels par

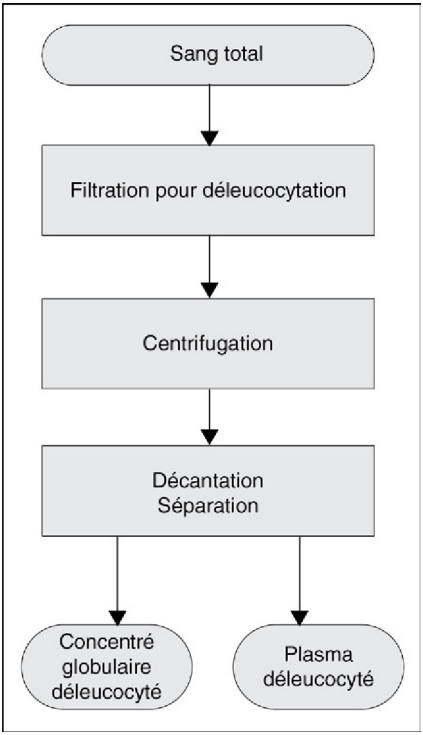


Figure 1.2. Préparation de produits sanguins labiles par filtration du sang total.

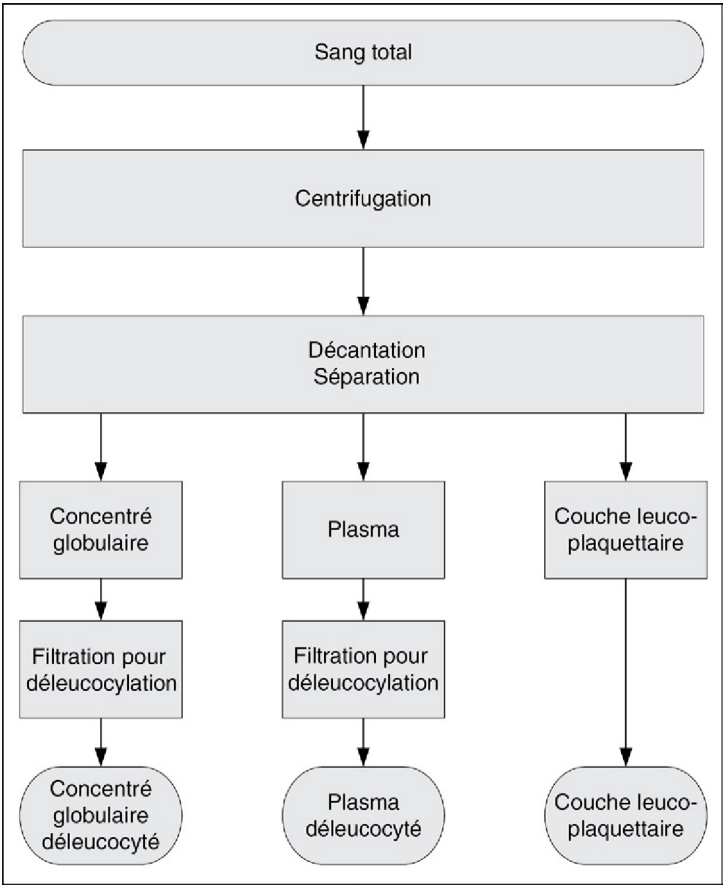


Figure 1.3. Préparation de produits sanguins labiles à partir d'un dispositif permettant l'élaboration d'une couche leuco-plaquettaire.

poche, un minimum de 40 g d'hémoglobine, et leur hématocrite doit être compris entre 50 et 70 % pour un volume minimal de 125 ml avant ajout de la solution de conservation. À la fin de la durée de conservation de 42 jours, le taux d'hémolyse est inférieur à 0,8 % de la masse globulaire. Les concentrés érythrocytaires déleucocytés seront étiquetés pour être libérés et attribués.

Les plasmas issus de sang total homologues peuvent être adressés au Laboratoire français de fractionnement et des biotechnologies (LFB) ou utilisés comme matière première pour l'élaboration de plasma à usage thérapeutique. Leur volume doit être supérieur à 150 ml pour une

orientation vers le LFB ou 200 ml pour un usage thérapeutique. Pour le LFB, quand le volume est compris entre 150 et 200 ml, il convient de s'assurer qu'il n'existe pas d'altération du produit. Le plasma destiné au fractionnement contient un minimum de 50 g/l de protéines totales et plus de 0,7 UI/ml de facteur VIII. Deux catégories de plasmas pour le fractionnement sont distinguées selon le délai entre la fin du prélèvement et la congélation du plasma :

- le plasma « catégorie 1 », identifié en fonction de la durée, qui est congelé dans un délai n'excédant pas 24 heures après la fin du prélèvement ;
- le plasma « catégorie 2 », pour lequel le temps de prélèvement du sang total est supérieur à 15 minutes et/ou la congélation est intervenue dans un délai supérieur à 24 heures après la fin du prélèvement.

La recherche d'anticorps anti-HBs ou antitétaniques oriente le plasma « fractionnement » vers une spécificité propre à chaque type d'anticorps.

Pour une orientation vers la sécurisation par quarantaine, il convient de s'assurer qu'il n'existe pas d'altération du produit. Le contenu résiduel en leucocytes ne doit pas être supérieur à 1×10^4 par litre. Le contenu résiduel en globules rouges est inférieur ou égal à 6×10^9 par litre, le contenu résiduel en plaquette est inférieur ou égal à 25×10^9 par litre. Les unités doivent être congelées dans les 24 heures suivant la fin du prélèvement.

Le plasma contient au moins 0,7 UI/ml de facteur VIII après décongélation (vérification faite sur un mélange d'au moins six unités de plasma).

La sécurisation vis-à-vis des agents pathogènes transmissibles par transfusion par quarantaine consiste à conserver un plasma pendant un minimum de 60 jours. Passé ce délai, sa libération est subordonnée à une nouvelle vérification de la conformité des examens biologiques réglementaires chez le donneur. Les plasmas frais sécurisés par quarantaine issus de sang total seront étiquetés pour être libérés et attribués.

Préparation de mélanges de concentrés de plaquettes déleucocytés

À partir des poches de couches leuco-plaquettaires obtenues lors de la séparation primaire du sang total, sont réalisés les mélanges concentrés plaquettaires déleucocytés. Une vérification de la conformité des poches de couches leuco-plaquettaires est réalisée préalablement à l'étape de mélange. Des poches de couches leuco-plaquettaires (généralement cinq) de même groupe sanguin sont reliées par connexions stériles, une solution additive et de conservation peut alors être ajoutée. Le mélange de couches leuco-plaquettaires est réalisé. Il subit une centrifugation de type « douce » et le plasma riche en plaquettes obtenu est filtré en vue de la déleucocytation du produit. Les mélanges de concentrés de plaquettes déleucocyté (MCPSD) sont ainsi produits. Ils sont ensuite étiquetés en vue de leur libération et distribution (figure 1.4).

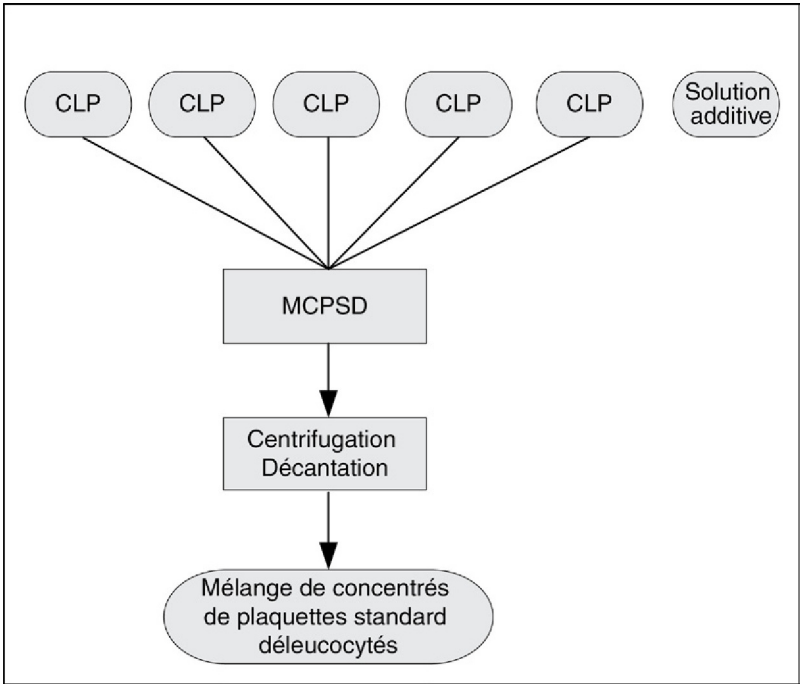


Figure 1.4. Préparation de MCPSD.

Les MCPSD peuvent être viro-atténués par la technique Intercept® (amotosalen-HCl + UVA), mais cette étape n'est pas systématisée en France.

Actuellement, la majorité des MCPSD sont préparés en solution additive de conservation. L'utilisation de poches plastique spécifiques permet leur conservation pendant un maximum de 5 jours en agitation lente et continue, à une température comprise entre 20 et 24°C. Le produit déleucocyté doit contenir moins de 1×10^6 leucocytes résiduels. La quantité minimale de plaquettes à obtenir est calculée en regard du nombre de couches leuco-plaquettaires entrant dans la composition du mélange déleucocyté ($0{,}375 \times 10^{11}$/unité introduite) et ne doit pas être inférieure à 1×10^{11} plaquettes. En fin de conservation, le pH du produit doit être supérieur ou égal à 6,4.

Préparation des produits issus d'aphérèse

Les techniques d'aphérèse séparent directement les composants sanguins lors du prélèvement. Des opérations de production sont toutefois nécessaires sur certains produits issus d'aphérèse : si certains dispositifs d'aphérèse intègrent directement l'étape de déleucocytation dans le procédé de

prélèvement, d'autres nécessitent une reprise du produit en vue d'une filtration pour déleucocytation ou en vue d'ajout de solution de conservation. Une viro-atténuation peut être appliquée sur le plasma issu d'aphérèse ou sur les concentrés plaquettaires d'aphérèse. Actuellement, elles sont déployées en France dans la préparation du plasma à usage thérapeutique direct et seulement réalisées dans quelques établissements sur les concentrés plaquettaires.

Les techniques d'aphérèse permettent d'obtenir directement soit un concentré de plaquettes, soit un plasma, soit un concentré érythrocytaire, soit plusieurs produits en un seul don.

Concentré plaquettaire d'aphérèse déleucocyté (CPAD)

Les CPAD pourront être repris dans les laboratoires de préparation pour une éventuelle étape de déleucocytation par filtration et une viro-atténuation — mais cette étape n'est pas systématisée en France. Actuellement, les CPAD sont préparés soit en milieu plasmatique soit en solution additive de conservation. L'utilisation de poches plastiques spécifiques permet leur conservation pendant un maximum de 5 jours en agitation lente et continue, à une température comprise entre 20 et 24°C. Le produit déleucocyté doit contenir moins de 1×10^6 leucocytes résiduels. La quantité de plaquettes ne doit pas être inférieure à 2×10^{11}. En fin de conservation, le pH doit être supérieur ou égal à 6,4.

Plasma issu d'aphérèse

Il est une source importante de plasma à destination du fractionnement. Après déleucocytation, congélation et étiquetage validant et libératoire, il est acheminé vers le LFB. Son volume doit être supérieur à 150 ml. Quand il est compris entre 150 et 200 ml, il faut s'assurer qu'il n'y a pas eu altération du produit. Le plasma pour fractionnement renferme au minimum 50 g/l de protéines totales et plus de 0,7 UI/ml de facteur VIII. Deux catégories de plasma pour le fractionnement sont identifiées selon le délai compris entre la fin du prélèvement et la congélation du plasma : le plasma « catégorie 1 » qui doit être congelé dans un délai n'excédant pas 24 heures après la fin du prélèvement ; le plasma « catégorie 2 » pour lequel la congélation est intervenue dans un délai supérieur à 24 heures après la fin du prélèvement. La recherche d'anticorps anti-HBs ou antitétaniques permet d'orienter le plasma « fractionnement » vers une spécificité propre à chaque type d'anticorps. Actuellement, en France, trois types de plasmas d'aphérèse à usage thérapeutique sont autorisés et utilisés :

- le plasma frais congelé viro-atténué par solvant-détergent déleucocyté (PVA-SD) ;
- le plasma frais sécurisé par quarantaine (PFCADSe) ;
- le plasma viro-atténué par amotosalen.

Tableau 1.6. Traitement du plasma pour viro-atténuation.

	Plasma viro-atténué par amotosalen	Plasma viro-atténué par solvant-détergent	Plasma viro-atténué par le bleu de méthylène*
Matière première	Plasma d'aphérèse	Plasma d'aphérèse	Plasma d'aphérèse
Qualification biologique	Standard	Standard et parvovirus B19	Standard
Produit fini	Unitaire	Mélange de 100 dons	Unitaire
Atténuation	Virus enveloppés, bactéries, parasites	Virus enveloppés	Virus enveloppés
Conservation	Un an après le prélèvement	Un an après la préparation	Un an après le prélèvement
Volume	> 200 ml	200-220 ml	200-300 ml
pH		7-7,6	
Facteur VIIIc	> 0,5 UI/ml	> 0,5 UI/ml	> 0,7 UI/ml
Fibrinogène	> 2 g/l	> 2 g/l	
Résidus 1	Amotosalen ≤ 2 µM	TnBP < 2 µg/ml	Bleu de méthylène ≤ 30 µg/l
Résidus 2		Octoxynol 9 < 10 µg /ml	Azur A, B et C ≤ 6 µg/l

* Procédé non autorisé en France.

La fabrication des produits viro-atténués (tableau 1.6) s'effectue comme décrit ci-après.

Plasma frais congelé viro-atténué par solvant-détergent déleucocyté (PVA-SD)

En France, le PVA-SD est préparé à partir d'un pool de plasma de 100 donneurs au maximum (*versus* 400 dans le reste de l'Europe). Il s'agit de pools de plasma d'aphérèse, de même groupe sanguin, congelés dans les 6 heures suivant le prélèvement. L'inactivation des agents pathogènes est réalisée après congélation-décongélation (qui détruit les cellules) en utilisant le solvant tri-*n*-butyl-phosphate (TnBP) et le détergent Triton X100®. Cette technique nécessite plusieurs filtrations, lesquelles entraînent une élimination totale des cellules (et des pathogènes intracellulaires), des débris cellulaires, des antigènes (plaquettaires, érythrocytaires, leucocytaires) et des bactéries. L'élimination des inactivateurs s'opère par l'huile de ricin et chromatographie, afin de répondre à la norme des caractéristiques des PSL (facteur VIIIc > 0,5 UI/ml). Après filtration stérilisante, le plasma, produit acellulaire et stérile (chaque lot de fabrication a un contrôle de stérilité et d'apyrogénicité), est réparti aseptiquement en unités de 200 ml.

Plasma viro-atténué par le bleu de méthylène (PVA-BM)

Le PVA-BM n'est plus préparé en France. Les caractéristiques de ce produit sont données à titre indicatif. Il reste une source de plasma thérapeutique pour de nombreux pays européens.

Sa préparation est réalisée selon un protocole standardisé associant :

- l'utilisation d'un plasma d'aphérèse déleucocyté (moins de 10^4 leucocytes résiduels par litre) ;
- la mise en œuvre d'un dispositif à usage unique permettant, après connexion stérile à la poche de plasma, d'additionner 85 μg de bleu de méthylène pour obtenir une concentration moyenne finale en bleu de méthylène de 0,84 à 1,13 μM ;
- l'apport de l'énergie lumineuse nécessaire à l'illumination par une source émettant à 590 nm et délivrant une dose de 180 J/cm^2. Quatre poches sont traitées par cycle pendant 20 à 25 minutes ;
- la filtration du plasma traité pour l'élimination du bleu de méthylène et de ses résidus photochimiques, afin d'obtenir une concentration en bleu de méthylène résiduel inférieure à 30 μg/l. Le volume du plasma doit être compris entre 200 et 300 ml ;
- la congélation du produit viro-atténué qui doit intervenir dans les 12 heures après le prélèvement.

Plasma viro-atténué par amotosalen (PFCAD-IA)

La technique Intercept® a été validée par l'Afssaps pour le plasma prélevé par aphérèse. Le volume de plasma avant traitement doit être compris entre 385 et 650 ml, et la concentration en globules rouges résiduels ne doit pas excéder 4×10^9 par litre. Un dispositif médical à usage unique est connecté au plasma, ce qui permet d'effectuer les opérations unitaires du procédé Intercept® : addition de l'amotosalen, illumination, réduction de l'amotosalen résiduel, conservation. L'addition de 15 ml d'amotosalen-HCl 6 mM s'effectue en transférant le plasma dans la poche d'illumination. La concentration en amotosalen varie ainsi entre 135 et 225 μM. L'opération d'illumination est réalisée sous agitation et délivre, par rayonnement UVA, une dose énergétique comprise entre 5,8 et 7,0 J/cm^2. Deux plasmas d'un maximum de 650 ml sont traités pour un cycle d'illumination compris entre 6 et 8 minutes. L'amotosalen résiduel est ensuite éliminé par absorption au contact de billes absorbantes immobilisées dans un filtre. Cette opération s'effectue par transfert du plasma illuminé de la poche d'illumination vers les trois poches de conservation. La durée moyenne est inférieure à 30 minutes. La concentration d'amotosalen résiduel doit être inférieure ou égale à 2 μM. Le plasma est ensuite réparti par gravité entre les trois

poches pour constituer trois unités thérapeutiques d'un volume supérieur à 200 ml. Ces unités doivent être congelées dans les 18 heures suivant l'heure de fin de prélèvement.

Plasma frais sécurisé par quarantaine (PFCADSe)

La sécurisation vis-à-vis des agents pathogènes transmissibles par transfusion par quarantaine consiste à conserver un plasma pendant un minimum de 60 jours ; passé ce délai, sa libération est subordonnée à une nouvelle vérification de la conformité des examens biologiques réglementaires chez le donneur. Les unités doivent être congelées dans les 24 heures suivant la fin du prélèvement.

Pour une orientation vers la sécurisation par quarantaine, il convient de s'assurer qu'il n'existe pas d'altération du produit. Le volume de conditionnement est supérieur ou égal à 200 ml. Le contenu résiduel en leucocytes ne doit pas être supérieur à 1×10^4 par litre. Le contenu résiduel en globules rouges est inférieur ou égal à 6×10^9 par litre, le contenu résiduel en plaquette est inférieur ou égal à 25×10^9 par litre.

Le plasma contient au moins 0,7 UI/ml de facteur VIII après décongélation (vérification faite sur un mélange d'au moins six unités de plasma).

Les plasmas frais sécurisés par quarantaine issus de sang total seront étiquetés pour être libérés et attribués.

Concentré globulaire déleucocyté d'aphérèse (CGDA)

Les concentrés globulaires issus d'aphérèse sont filtrés pour une déleucocytation. À partir d'un don, en fonction du donneur et du séparateur utilisé, il est possible d'obtenir jusqu'à deux unités adulte. Les caractéristiques et modalités de validation, d'étiquetage et de libération, ainsi que de conservation et de stockage sont identiques à celles des concentrés érythrocytaires déleucocytés issus de sang total.

Concentré de granulocytes d'aphérèse (CGA)

Les CGA nécessitent peu d'interventions de la part du service de préparation. Il peut être appliqué à ces produits une étape de désérythrocytation. La brève durée de conservation de ce produit (12 heures à température comprise entre 20 et 24°C, en dehors de toute agitation) nécessite la réalisation de la qualification dans l'urgence. Les CGA sont systématiquement irradiés. L'étiquetage mentionne le volume et le contenu en granulocytes de la poche ($> 2 \times 10^{10}$).

Transformation et qualification

Des qualifications et transformations, définies par la réglementation, peuvent être appliquées aux PSL. Les principales transformations sont décrites ci-après.

Addition d'une solution de conservation

Cette transformation, qui a pour but d'améliorer et de prolonger la conservation d'un produit sanguin cellulaire, s'applique aux concentrés de globules rouges, aux mélanges de concentrés de plaquettes standards et aux concentrés de plaquettes issus d'aphérèse.

Pour les concentrés globulaires, l'addition de la solution SAG-M (celle qui est principalement utilisée en France) est réalisée automatiquement en fin de procédé d'extraction des produits sanguins ou par intervention manuelle. L'ajout de cette solution permet de conserver les concentrés érythrocytaires déleucocytés pendant 42 jours (à une température comprise entre 2 et 6°C). L'ajout de 105 ml de solution de SAG-M diminue la viscosité et l'hématocrite de ce produit. La conservation du concentré érythrocytaire est ainsi améliorée par l'apport d'éléments contenus dans la solution de conservation : le glucose favorise la conservation du métabolisme des érythrocytes ; l'adénine et le glucose maintiennent la viabilité érythrocytaire pendant la conservation ; le mannitol joue un rôle dans la stabilisation de la membrane cellulaire et la prévention de l'hémolyse. Pour les concentrés plaquettaires, la substitution d'une partie du plasma par une solution de conservation entraîne une diminution des réactions post-transfusionnelles liées aux substances actives présentes dans le plasma. Cette transformation augmente le volume de plasma récupéré. L'addition de cette solution est réalisée directement par l'automate d'aphérèse (CPAD) ou l'est en cours de préparation (phase de mélange) lors de la fabrication des MCPSD. Selon la solution utilisée, 30 à 38 % de plasma composeront le milieu de conservation final. La composition des solutions varie, mais elle inclut essentiellement des acétates (substrat métabolique), des citrates (neutralisation de l'activité plaquettaire), un tampon (maintien du pH) et une solution induisant l'isotonicité du milieu (chlorure de sodium).

Préparation pédiatrique

Il s'agit de préparer et de stocker plusieurs unités issues d'un même don, destinées à un même enfant, dans le but de réduire le nombre de donneurs impliqués. Cette transformation peut s'appliquer à tous les produits. On réalise des sous-unités à partir du produit « mère » par division aseptique en circuit clos, avec des connexions stériles. Chaque unité pédiatrique est enregistrée et étiquetée ; le volume chacune est précisé sur l'étiquette. Les conditions de conservation sont identiques à celle du produit d'origine.

Réduction de volume

Elle consiste à éliminer aseptiquement une partie du milieu de suspension d'un PSL cellulaire homologue à usage thérapeutique. Cette transformation se réalise par centrifugation, décantation et remise en suspension dans une partie limitée du milieu initial de conservation. Le concentré de plaquette

d'aphérèse ou le mélange de concentrés de plaquettes d'aphérèse réduit de volume doit contenir au moins 80 % des plaquettes du produit d'origine ; le concentré érythrocytaire réduit de volume doit avoir un hématocrite d'au moins 70 % ; le concentré de granulocytes d'aphérèse (CGA) doit posséder, après cette transformation, au moins 80 % des granulocytes initialement présents. L'étiquetage du produit transformé doit faire apparaître le volume exprimé en millilitres. Après réduction de volume, les conditions de conservation pour la température sont inchangées par rapport au produit d'origine. La durée de vie du concentré érythrocytaire déleucocyté réduit de volume est de 24 heures après transformation ; elle est de 6 heures pour les MCPSD, CPAD et CGA.

Déplasmatisation

On élimine aseptiquement la majeure partie du plasma d'un PSL cellulaire homologue à usage thérapeutique. Cette transformation a pour but de prévenir les manifestations allergiques majeures chez les receveurs ayant déjà présenté des réactions aux protéines plasmatiques. Des méthodes manuelles ou automatiques sont utilisées : le principe repose sur une centrifugation, suivie d'une extraction du liquide surnageant, avec remise en suspension dans une solution de conservation. La durée de conservation du produit déplasmatisé dépend de la technique, de la solution de conservation, de l'ouverture ou non du système clos, et du produit homologue transformé. Une diminution de la quantité des principes actifs est consécutive à ces transformations, mais la quantité de protéines résiduelles extracellulaires doit être inférieure ou égale à 0,5 g. Le produit déplasmatisé est étiqueté. L'étiquette finale libératoire mentionne en outre la nature du milieu de suspension, le volume du produit (en millilitres) et la date de péremption du produit transformé (sa durée de vie est réduite par rapport au produit d'origine).

Sang reconstitué à usage pédiatrique

Cette transformation consiste à mélanger aseptiquement, généralement par connexion stérile, un concentré de globules rouges déleucocyté, issu de sang total ou d'aphérèse, à une solution d'albumine 4 % ou à un plasma viro-atténué décongelé, en fonction de l'indication clinique. La durée de conservation est limitée à 6 heures après la transformation.

Cryoconservation

Elle consiste à congeler, conserver et décongeler aseptiquement un PSL cellulaire, en présence d'un cryoprotecteur. Cette transformation s'adresse aujourd'hui spécifiquement à des produits dits de « phénotypes rares », pour lesquels il est nécessaire de constituer une réserve de sang. La cryoconservation est appliquée à des concentrés érythrocytaires déleucocytés et des CPAD phénotypés. L'utilisation d'un cryoprotecteur est requise : le

glycérol est utilisé pour la congélation des hématies, le diméthylsulfoxyde pour celle des plaquettes. Après addition du cryoprotecteur, le concentré est congelé (froid électrique, azote). La durée de conservation dépend de la température de conservation : les CPAD sont conservés au maximum 3 ans, à une température inférieure à – 130°C, ou 2 ans entre – 60°C et – 85°C. Les concentrés érythrocytaires déleucocytés peuvent être conservés plus de 10 ans à une température inférieure à – 60°C, et moins de 4 mois si la température est inférieure à – 30°C. Après décongélation (au bain-marie à 37°C), le cryoprotecteur est éliminé par lavage, et les cellules sont remises en suspension dans une solution de conservation. Les différentes étapes sont enregistrées et le produit fini est étiqueté pour être libéré. Après décongélation, le concentré érythrocytaire déleucocyté se conserve entre 24 heures et 7 jours (selon la technique de lavage et la solution de conservation utilisée), à une température comprise entre 2 et 6°C. Le CPAD se conserve un maximum de 6 heures après la transformation.

Irradiation

Elle consiste à exposer un PSL cellulaire homologue à une source de rayonnements ionisants, pour rendre non viables les lymphocytes potentiellement présents dans le produit. La dose reçue en chaque point du produit doit être comprise entre 25 et 45 Gy. Un témoin d'irradiation peut être utilisé pour contrôler la réalité de l'irradiation. Les concentrés de globules rouges et les concentrés plaquettaires peuvent être irradiés à tout moment. Après irradiation, la durée de conservation reste inchangée pour les concentrés de plaquettes ; pour les concentrés érythrocytaires, cette durée dépend de l'âge du produit et de sa caractérisation en unité enfant ou adulte. La date d'irradiation, le type du produit, le temps d'exposition, le numéro du produit et le nom de l'agent ayant effectué l'irradiation sont enregistrés. L'étiquette doit indiquer, outre les mentions propres au produit de base ou aux produits issus de ces transformations, la mention « *Irradié le…* » et la dose calculée en Gy ou la mention « *25 Gy minimum* »

Préparation de produit autologue

Elle s'effectue sur les plateaux techniques de préparation. Les procédés et les techniques de l'obtention de ces PSL sont en tous points identiques à ceux employés pour la fabrication des produits homologues. Quelques différences, cependant, induisent une stratégie organisationnelle différente : le prélèvement d'un don autologue provenant d'un malade étant assimilé à un acte thérapeutique, il est obligatoire de préparer ces produits, soit dans une entité de lieu spécifique, soit par campagne après un vide de ligne permettant de s'affranchir de la présence de produit homologue. Il en est de même pour le stockage de ces produits, qui doit s'effectuer dans des zones spécifiques et identifiées. Enfin, la déleucocytation n'est pas

obligatoire pour leur libération, mais elle peut être réalisée de principe ou à la demande, selon la politique des établissements de transfusion et à la demande médicale.

Perspectives et évolutions de la préparation des PSL

Les laboratoires de préparation des PSL sont nés à partir du passage de la transfusion de sang total au principe de transfusion sélective. Leur activité principale a été, pendant de nombreuses années, limitée à la séparation et à la conservation des produits sanguins. Des développements au cours des dernières années ont abouti à des techniques validées pour la viro-atténuation du plasma et des concentrés de plaquettes. À terme, ces méthodes devraient être applicables aux concentrés globulaires et au sang total.

Actuellement, la préparation des PSL s'effectue dans un contexte semi-industrialisé, de nombreuses techniques étant réalisées manuellement par les techniciens. La volonté d'optimiser chaque opération unitaire des procédés de production fait apparaître la nécessité de systèmes automatisés de préparation des PSL. Plus que l'automatisation, c'est la mise en place d'un système organisationnel efficace du processus de production, qui permettra d'améliorer de manière continue ce flux allant du donneur au receveur.

Il y a environ 2 ans, le CTSA a développé un PVA lyophilisé permettant ainsi une utilisation plus facile et efficace sur le théâtre des opérations.

1.3 Qualification biologique des dons de sang

Il apparaît important de présenter la manière dont le législateur appréhende le concept de « qualification biologique du don » (QBD). Dans la partie réglementaire du Code de la santé publique, au Livre II et Titre II, la QBD occupe la section 2 et est elle-même divisée en deux sous-sections :

- la première, intitulée *Sélection des donneurs*, précise « qu'avant l'entretien préalable au don du sang, le candidat à ce don remplit un questionnaire dont la forme et le contenu sont définis par décision du directeur général de l'Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé (Afssaps) après avis de l'Établissement français du sang (EFS) et du Centre de transfusion sanguine des armées (CTSA) ». Plus loin est mentionnée que la fixation des contre-indications temporaires et définitives au don du sang est faite par arrêté du ministre chargé de la Santé ;
- la seconde concerne, à proprement parler, « les analyses biologiques et tests de dépistage ».

Ce positionnement des analyses et dépistages en aval de la sélection des donneurs permet de situer la complémentarité des deux activités, ainsi que

les filtres successifs qu'elles introduisent pour accroître la sécurité des dons de sang. La QBD n'est envisagée que lorsque le donneur a passé avec succès la barrière de sécurité pour lui-même et pour les receveurs du don de sang qu'il effectue. Elle a donc pour mission première de garantir la sécurité du don pour le patient transfusé, même si certaines analyses réalisées avant le don ou après celui-ci ont pour objectif de vérifier l'aptitude au don et la protection de la personne qui donne son sang.

Ainsi positionnée, la QBD est définie dans le texte des *bonnes pratiques transfusionnelles* comme une activité qui intègre :

- l'ensemble des analyses obligatoires systématiques ou non, effectuées sur des échantillons provenant de l'activité de prélèvement homologue et autologue ;
- le traitement d'informations disponibles liées au don ou au donneur utiles à la qualification biologique, que ce soit les données administratives et biologiques du donneur, les données de l'entretien pré-don, les informations post-don, les données de vigilances, ainsi que les résultats du suivi de la qualité.

Mais la qualification intègre également les autres analyses non obligatoires, qui complètent les qualifications de certains produits sanguins labiles (PSL), afin de répondre à des utilisations thérapeutiques spécifiques. L'ensemble de ces données concourt à l'établissement du statut du don.

Objectifs de la qualification biologique des dons

Les objectifs principaux sont les suivants :

- définir les caractéristiques immuno-hématologiques du don et donc du donneur, puis les confronter à celles éventuellement déjà connues antérieurement pour le même donneur avec, comme objectif, la compatibilité immuno-hématologique des PSL transfusés aux patients ;
- assurer la sécurité vis-à-vis des agents transmissibles par le sang dépistés en comparant les résultats obtenus avec ceux éventuellement connus sur un don antérieur du même donneur, pour ce don ;
- réaliser ces analyses dans des temps compatibles avec l'utilisation optimale des différents PSL et une fiabilité maximale s'inscrivant dans le concept général de la sécurité en transfusion sanguine.

Des rôles complémentaires découlent de ces objectifs :

- la valorisation des différents PSL en fonction soit des caractéristiques immuno-hématologiques mises en évidence lors des étapes de qualification (concentrés de globules rouges polyphénotypés ou présentant des groupes sanguins rares), soit des caractéristiques sérologiques établies lors des dépistages (absence d'anticorps anti-CMV, présence d'anticorps anti-HBs à titre élevé dans le plasma) ;

- l'information et l'orientation du donneur qui présente soit des caractéristiques phénotypiques rares, soit des anomalies (sous forme de positivité) vis-à-vis des agents infectieux transmissibles ;
- la participation à l'hémovigilance devant une séroconversion virale ou bactériologique, en déclenchant des enquêtes « descendantes » pour les receveurs concernés ;
- la participation à la vigilance des circuits, en alertant la collecte devant une discordance de groupe d'un donneur antérieurement connu ;
- la prise en compte des données des résultats de la qualification pour le suivi épidémiologique régional et national des donneurs, sous la responsabilité de l'Institut de veille sanitaire (InVS), afin d'enrichir les éléments participant à la sécurité transfusionnelle, à l'évaluation du risque résiduel transfusionnel et aux améliorations à mettre en place.

Concept de sécurité

Le concept de sécurité structure toute la démarche de la QBD à travers l'adaptation aux données et aux évolutions de la veille scientifique, l'introduction successive des dépistages et analyses au cours du temps, l'organisation territoriale des laboratoires, le contexte législatif et réglementaire, les analyses et dépistages obligatoires, les démarches analytiques encadrées, enfin l'organisation et les moyens informatiques et matériels.

Une sécurité évolutive vis-à-vis des maladies transmissibles

Pour préciser le rôle, déjà mentionné, de veille épidémiologique, il convient de souligner que les tests de dépistage des maladies transmissibles par le sang ne s'appliquent qu'à peu d'agents, lesquels sont à l'origine de pathologies infectieuses chroniques pour la plupart ou pouvant passer inaperçues, pour lesquelles les patients ne sont pas ou très peu protégés, avec des incubations longues et silencieuses méconnues du sujet porteur, avec une circulation de l'agent infectieux dans le sang ou les cellules sanguines, et donc une forte probabilité de transmission de cet agent.

Cela n'exclut pas que d'autres agents pathogènes pour l'homme, notamment viraux, puissent être transmis par le sang. Une étude conduite par l'InVS en collaboration avec l'EFS, a dressé un inventaire des pathologies infectieuses, souvent asymptomatiques, évoluant sur le mode épidémique et potentiellement transmissibles par le sang en France, en s'attachant à définir leurs circonstances particulières (épidémiques et cliniques). Même avec des virémies courtes chez les sujets porteurs, le dépistage des dons de sang devenait nécessaire pour prévenir des transmissions transfusionnelles. C'est ainsi qu'à la lumière de l'épidémie de *West Nile Virus* (WNV)

aux États-Unis, à partir de 1999, de celle du virus chikungunya sur l'île de la Réunion en 2006, des outils de calcul et de veille épidémiologique ont été utilisés ayant permis de prendre des mesures préventives vis-à-vis des donneurs et de déclencher le dépistage du WNV dans le sud de la France pendant l'été 2004 et celui du virus chikungunya à la Réunion en 2006. De même ont été mis en place le dépistage des donneurs exposés au risque de contact avec le parasite *Trypanosoma cruzi*, agent de la maladie de Chagas, à partir de novembre 2006 aux Antilles et en mai 2007 en France métropolitaine, ainsi que le dépistage des anticorps contre le virus de la dengue en Martinique en 2007.

La problématique du prion est confirmée quant à son existence et sa transmissibilité chez l'homme. L'épidémiologie et les approches statistiques sont encore mal connues.

Introduction successive des différentes analyses et dépistages

Au cours des dernières décennies ont été mis en place des analyses et des dépistages (tableau 1.7), souvent très rapidement après leur mise au point, comme le dépistage des anticorps anti-virus de l'hépatite C (VHC) . Cette démarche illustre la préoccupation permanente d'accroître la sécurité transfusionnelle, qui est intimement liée et complémentaire à d'autres mesures telles que l'entretien pré-don, la qualité du prélèvement pour prévenir les contaminations bactériennes, mais aussi les mesures concernant, en aval de la qualification, la préparation des PSL (poches multiples, connexions stériles, déleucocytation des PSL, etc.). Ces actions s'inscrivent ainsi dans la démarche permanente d'amélioration de la qualité de la chaîne transfusionnelle depuis le don jusqu'au patient.

Organisation territoriale

Les multiples objectifs préalablement définis nécessitent une organisation adaptée aux besoins du nombre de dons à traiter, de la diversité des analyses à gérer, de sécurité et de traçabilité, enfin de qualité. Cela passe par :

- une automatisation et une informatisation homogène pour les échanges de données et le pilotage des algorithmes décisionnels ;
- des choix de réactifs et de consommables dans le cadre de procédures d'appels d'offres nationaux ou régionaux, répondant au Code des marchés publics ;
- une veille technologique réactive, permettant une adaptabilité rapide pour répondre aux informations et aux besoins de la veille épidémiologique et scientifique.

L'organisation territoriale de la QBD est régionale, avec dix-sept laboratoires, un par région et par établissement, dont la capacité va de 10 000 à

Tableau 1.7. Années de mise en place des analyses et dépistages.

Analyse et dépistage	Année
Dépistage de la syphilis	1952
Recherche des anticorps antiérythrocytaires	1952
Dépistage de l'antigène HBs	1971
Dépistage des anticorps anti-VIH-1, puis VIH-1/2	1985
Dépistage des anticorps anti-*Plasmodium*	1986
Dépistage d'un taux élevé de transaminases (ALAT) pour la prévention des hépatites non A, non B	1988
Dépistage des anticorps anti-HBc	1988
Dépistage des anticorps anti-HTLV-I/II aux Caraïbes	1989
Dépistage des anticorps anti-VHC	1990
Dépistage des anticorps anti-HTLV-I/II en France métropolitaine	1991
Dépistage génomique viral (DGV) du VHC et du VIH-1	2001
Dépistage génomique viral du VHB aux Antilles et à la Réunion	2004
Dépistage génomique temporaire du *West Nile Virus*	2004
Dépistage génomique temporaire du virus chikungunya	2006
Dépistage des anticorps anti-*Trypanosoma cruzi* (agent du Chagas) aux Antilles	2006
Dépistage des anticorps anti-*Trypanosoma cruzi* (France métropolitaine et Réunion)	2007
Dépistage temporaire des anticorps dirigés contre le virus de la dengue (Antilles)	2007
Numération sanguine sur tous les dons et dosage de l'hémoglobine pré-don	2008
Dépistage génomique viral du VHB en France métropolitaine	2010

plus de 330 000 dons. Tous ces laboratoires réalisent les mêmes analyses, systématiques ou non, avec les mêmes réactifs sélectionnés sur leurs qualités de sensibilité et de spécificité, avec des automates choisis pour leur fiabilité et adaptés aux volumes à traiter.

Contexte législatif et réglementaire

Cette organisation nationale s'inscrit dans un contexte législatif et réglementaire, que la QBD doit appliquer et respecter. Elle s'appuie sur plusieurs directives européennes déclinées en droit français :

- directives 2002-98 et 2005/62/CE sur les normes et spécifications communautaires relatives à un système de qualité dans les établissements de transfusion sanguine, transposées toutes les deux en droit français par la décision

du 6 novembre 2006 définissant les principes des bonnes pratiques transfusionnelles ;
- directive 2004-33 transposée notamment par la décision du 28 février 2006, fixant la forme et le contenu du questionnaire que remplit le candidat au don de sang en l'application de l'article R. 1221-5 du Code de la santé publique et par l'arrêté du 12 janvier 2009 fixant les critères de sélection des donneurs de sang ;
- directive 98-79 relative aux dispositifs médicaux de diagnostic *in vitro* et à leurs accessoires transposée par le décret 2004-108 du 4 février 2004, relatif aux dispositifs médicaux de diagnostic *in vitro* et modifiant le Code de la santé publique.

Les *bonnes pratiques transfusionnelles* décrivent l'organisation et les obligations des laboratoires en termes de :
- qualification, formation, habilitation du personnel, description de leur poste ;
- organisation des locaux ;
- gestion, validation et contrôle des réactifs et consommables ;
- choix, qualification, maintenance et entretien du matériel ;
- validation des méthodes ;
- management de la qualité ;
- évaluation de la maîtrise des risques pour les patients, le personnel, l'environnement ;
- traçabilité et fiabilité des résultats et des opérations ;
- documentation.

À côté de ces directives européennes, l'EFS doit se doter de procédures nationales, de référentiels et de modes opératoires opposables, en conformité avec la décision du 6 novembre 2006 définissant les principes des bonnes pratiques transfusionnelles. À ce jour, pour la QBD, plusieurs documents sont en place et applicables : ils concernent les modalités de réalisation des analyses, la liste des réactifs et consommables critiques devant faire l'objet d'un suivi particulier, les conduites à tenir devant des résultats anormaux. Ils sont listés dans le tableau 1.8.

Analyses et dépistages permettant la qualification biologique des dons

Tous ces laboratoires réalisent les mêmes analyses obligatoires, définies dans le Code de la santé publique (art. D. 1221-6) : certaines sont systématiques sur tous les dons, d'autres ne le sont pas, mais sont réalisées en fonction des données de l'entretien pré-don ou bien annuellement (protéines plasmatiques) ou encore en fonction du type de dons (bilan hématologique et d'hémostase pour les dons de granulocytes, dosage de la ferritine à l'occasion du premier don en érythraphérèse).

Tableau 1.8. Documents nationaux de l'EFS.

Titre du document	Date d'application	Type du document
Liste nationale des consommables critiqués	31 décembre 2004	Procédure nationale
Conduite à tenir devant un résultat biologique anormal découvert chez un donneur de sang	31 décembre 2004	Procédure nationale
Conduite à tenir en cas d'anomalie sur le lien don/donneur portant sur le don en cours ou le don antérieur	31 décembre 2004	Procédure nationale
Algorithmes autologues	31 mars 2008	Mode opératoire
Algorithmes décisionnels de qualification biologique du don : analyses microbiologiques	1er mars 2009	Référentiel
Modalités techniques de mise en œuvre des analyses de qualification biologiques du don : analyses microbiologiques	1er mars 2009	Référentiel
Modalités techniques de mise en œuvre des analyses et des algorithmes décisionnels de qualification immuno-hématologique érythrocytaire des dons	1er mars 2009	Référentiel
Conduite à tenir en cas de discordance avec l'antériorité ou en cas de résultat réactif répétable	1er mars 2009	Référentiel

Les termes du Code de la santé publique sont précisés dans l'article D. 1221-6.

Code de la santé publique

Art. D. 1221-6. – Les analyses biologiques et tests de dépistage suivants sont effectués sur chaque prélèvement de sang ou de composant du sang destiné à la préparation de produits sanguins labiles à usage thérapeutique direct ainsi que sur chaque donneur avant tout prélèvement de cellules souches hématopoïétiques ou de cellules somatiques mononucléées destinées à la réalisation de préparations cellulaires :

– 1° la détermination des groupes sanguins érythrocytaires, qui comprend la détermination du groupe dans le système ABO, celle du groupe Rh D (RH1) et, en cas de Rh D négatif (RH:–1), celle des autres antigènes du système rhésus : C (RH2), E (RH3), c (RH4) et e (RH5) ;

– 2° la recherche des anticorps antiérythrocytaires pouvant avoir une incidence clinique transfusionnelle ;

– 3° la détection des anticorps anti-A et anti-B immuns ;

– 4° le dosage de l'hémoglobine ou la détermination de l'hématocrite ;
– 5° les tests et analyses biologiques suivants en vue du dépistage de maladies transmissibles :
  – *a)* le dépistage sérologique de la syphilis, la recherche de l'infection par l'agent de la syphilis peut être réalisée en différé, dans les heures ouvrables suivant le prélèvement de cellules souches hématopoïétiques ou de cellules somatiques mononucléées destinées à la réalisation de préparations cellulaires ;
  – *b)* la détection de l'antigène HBs ;
  – *c)* la détection des anticorps anti-VIH-1 et anti-VIH-2 ;
  – *d)* la détection des anticorps anti-VHC ;
  – *e)* la détection des anticorps anti-HTLV-I et anti-HTLV-II ;
  – *f)* la détection des anticorps antipaludéens chez les donneurs ayant séjourné dans une zone d'endémie telle que définie par l'Organisation mondiale de la santé lorsque le prélèvement est effectué plus de quatre mois et moins de trois ans après la date de leur retour de la zone d'endémie ;
  – *g)* la détection des anticorps anti-HBc.

L'article suivant (art. D. 1221-7, modifié par le décret n° 2006-99 du 1er février 2006) précise les modalités d'utilisation des PSL : « Le sang ou ses composants ne peuvent être utilisés en vue de préparer des produits sanguins labiles destinés à un usage thérapeutique direct que si les résultats des tests de dépistage prévus au 5° de l'article D. 1221-6 sont négatifs. »

L'article (art. D. 1221-8) prévoit des dérogations possibles pour le sang ou ses composants prélevés en vue de préparer des PSL destinés à la transfusion autologue. Il est prévu de pouvoir réaliser d'autres analyses spécifiques pour les donneurs, avant tout prélèvement de cellules souches hématopoïétiques ou de cellules souches mononucléées destinées à la réalisation de préparations cellulaires, en supplément des analyses et tests mentionnés à l'article D. 1221-6, ainsi que leur condition d'utilisation au vu des résultats des tests et analyses obligatoires, en fonction du caractère allogénique ou autologue des greffes.

Dans l'article D. 1221-10, le législateur prévoit qu'un arrêté pourra préciser des analyses biologiques et des tests de dépistage à effectuer chez des donneurs de plasma.

Enfin, le dépistage génomique viral (DGV) du VIH-1 et du VHC est effectué sur les prélèvements de sang ou de composants du sang destinés à la préparation de PSL (art. D. 1221-11). Celui-ci, depuis 2001, était réalisé sur les échantillons de donneurs de sang poolés, soit par vingt-quatre (PCR Roche®) soit par huit (TMA Chiron®), selon les choix de réactifs et de technologies faits par les différents laboratoires de QBD. En 2010, le DGV du VHB a été introduit en France métropolitaine, soit en pool de huit échantillons dans cinq régions, soit unitairement, simultanément avec les DGV

du VIH et du VHC pour neuf autres régions, à l'occasion du renouvellement des automates.

D'autres analyses complémentaires sont réalisées dans des situations particulières (tableau 1.9) :

- en cas de besoin de PSL sans anticorps anti-CMV, les dons sont dépistés sérologiquement vis-à-vis de ces anticorps ;
- en cas de besoin de plasmas pour le fractionnement et la préparation d'immunoglobulines spécifiques, les dons sont titrés pour les anticorps antitétaniques et/ou anti-Hbs ;
- en cas de besoin de concentrés globulaires polyphénotypés dans d'autres groupes sanguins, les groupages sont réalisés pour les antigènes Duffy (FY1 et FY2), Kidd (JK1 et JK2), MNS (MNS1 ou M, MNS2 ou N, MNS3 ou S, MNS4 ou s) et d'autres selon les besoins spécifiques ;
- la découverte d'une difficulté rencontrée au cours du groupage entraîne la recherche d'autoanticorps ;
- une recherche d'agglutinines irrégulières (RAI) dépistée positive entraîne une identification des anticorps érythrocytaires ;
- la découverte d'une sérologie positive lors du dépistage des agents transmissibles entraîne une cascade d'examens complémentaires pour compléter le résultat et pour mieux informer le donneur sur l'anomalie rencontrée (recherche et titrage d'anticorps anti-HBs, dépistage d'anticorps anti-Hbe, d'anti-HBc IgM, d'antigène HBe, réalisation d'immunoblot de confirmation pour les anticorps anti-VIH, anti-VHC, anti-HTLV-I, syphilis, enfin réalisation d'un DGV unitaire du VIH-1 ou du VHC).

Une démarche analytique encadrée : le déroulement des analyses et des dépistages

La QBD s'effectue sur des échantillons de sang veineux prélevés sur la même ligne de prélèvement que le don lui-même. Seuls les tubes étiquetés à l'aide du numéro de don au moment du don (tubes primaires) sont acceptés par le laboratoire pour entrer dans le processus de qualification du don (« la qualification biologique du don passe par l'automation et l'informatisation des analyses »). Quel que soit le niveau d'automation et d'informatisation du système, la décision finale de la validation analytique revient à l'opérateur placé sous la responsabilité du responsable de laboratoire.

Pour guider la démarche des analyses et des dépistages, des référentiels sur les modalités techniques de mise en œuvre des analyses ont été rédigés. Ils décrivent, presque pas à pas, comment tous les laboratoires devront réaliser :

- les groupages sanguins pour un nouveau donneur et un donneur connu : quelle démarche adopter et comment la réaliser en cas de difficulté de groupage ? quels contrôles de qualité internes mettre en place pour garantir la

Tableau 1.9. Analyses obligatoires réalisées selon le type de dons et les circonstances du don en 2009.

Circonstances et types de dons	Immuno-hématologie	Agents transmissibles	Autres analyses pour la protection du donneur
Systématiques sur les dons homologues et autologues	ABO et RH1 (D) RH2, RH3, RH4, RH5 RAI Anticorps anti-A et anti-B immuns	Dépistage de la syphilis (TPHA) Dépistage sérologique antigène/anticorps VIH-1 + 2 + O Dépistage sérologique des anticorps anti-VHC Dépistage sérologique de l'antigène HBs Dépistage sérologique des anticorps anti-HBc Dépistage sérologique des anticorps anti-HTLV-I	Numération sanguine qualifiante pour chaque don homologue Hémoglobine pré-don avant chaque don autologue
Non systématiques sur les dons homologues et autologues, mais selon le contexte épidémiologique		Dépistage sérologique des anticorps dirigés contre l'agent du paludisme en cas séjour, de voyage ou de naissance en zone d'endémie, selon les données de l'entretien pré-don Dépistage sérologique des anticorps dirigés contre l'agent du Chagas en cas de séjour, de voyage ou de naissance en zone d'endémie, selon les données de l'entretien pré-don	
Systématiques sur les dons homologues		Dépistage génomique viral du VIH-1, du VHC et du VHB	
Obligatoires annuellement ou avant certains types de dons			Dosage des protéines totales pour les dons d'aphérèse plaquettaires et plasmatiques Dosage de la ferritinémie lors du premier don d'érythraphérèse

Circonstances et types de dons	Immuno-hématologie	Agents transmissibles	Autres analyses pour la protection du donneur
Pour les dons de cellules et de plasma homologues : les critères d'éligibilité du donneur dépendront du résultat du dosage de l'hémoglobine pré-don en fonction du type de don			Hémoglobine pré-don si le donneur est nouveau ou s'il n'a pas donné depuis 2 ans, ou si ses résultats antérieurs nécessitent un contrôle
Avant chaque don d'aphérèse plaquettaire et de granulocytes			NFS et numération de plaquettes
Avant chaque don de granulocytes par aphérèse			Bilan d'hémostase Électrocardio-gramme (ne fait pas partie de la qualification biologique)

fiabilité du résultat obtenu ? Ces contrôles de qualité internes sont fournis à tous les laboratoires et préparés selon les normes du marquage CE, au niveau de l'unité de préparation des réactifs de l'EFS. Ainsi, toutes les techniques mises en œuvre en immuno-hématologie doivent être validées pour un réactif et un matériel donnés. Chaque nouveau réactif fait l'objet d'une validation de méthode. Chaque nouvelle réception d'un lot de réactif fait l'objet d'une validation avant utilisation. Les paramètres critiques à valider sont spécifiques de chacune de ces étapes. La validation biologique doit répondre à une logique d'interprétation gérée informatiquement et permettant d'analyser la concordance entre les résultats d'une réalisation vis-à-vis d'une autre réalisation de groupe sur le même échantillon, les résultats d'une réalisation vis-à-vis d'une détermination antérieure, enfin les résultats de la recherche d'anticorps antiérythrocytaires vis-à-vis d'un résultat antérieur. En cas de non-conformité ou de discordance, une conduite à tenir spécifique, informatisée ou non, doit être définie ;

- les analyses de microbiologie, en s'entourant de contrôles de qualité internes multiparamétriques identiques aussi pour tous les laboratoires, car

élaborés, selon les normes CE, par l'unité de préparation des réactifs de l'EFS. Dans ces documents est indiqué avec précision comment doivent être calculées et prises en compte les « zones grises » des résultats pour les dépistages du VIH, du VHC et de l'antigène HBs, lesquelles entraînent un recontrôle de ces dépistages. Pour les autres dépistages, ce sont les préconisations du fournisseur qui sont prises en compte ;

- la démarche de qualification biologique, avec ses étapes successives, qui conduira à la caractérisation immuno-hématologique et à la qualification de conformité ou de non-conformité des PSL vis-à-vis des maladies transmissibles : soit le don est conforme et l'utilisation possible du don et des PSL, soit la conformité n'est pas établie et les PSL ne sont pas utilisables, tandis que des analyses complémentaires deviennent nécessaires.

Ces algorithmes d'analyses (figure 1.5), comme les modalités techniques de mise en œuvre, suivent les recommandations édictées dans le *Guide pour la préparation, l'utilisation et l'assurance de qualité des composants sanguins* élaboré par le Comité européen sur la transfusion sanguine (version 2008) et édité par la Direction européenne de la qualité du médicament et soins de santé (DEQM).

Pour le dépistage des agents transmissibles (tableau 1.10), les échantillons dits « positifs initiaux » doivent faire l'objet d'un double contrôle par la même méthode :

- si les tests dits de « répétabilité » restent négatifs, le résultat est « positif non répétable », et la conformité du don est déclarée (les résultats antérieurs du donneur, s'il a déjà donné son sang, sont et doivent être confrontés au résultat présent avant la déclaration de conformité) ;
- si l'un des tests dits de « répétabilité » (ou les deux) est positif, le don correspondant est « positif répétable », et les échantillons devront suivre des étapes d'analyses complémentaires pour confirmer ou infirmer la réalité de la positivité observée, tandis que le prélèvement ne pourra pas être utilisé pour des transfusions et sera déclaré non conforme pour cet usage. Les analyses complémentaires doivent être théoriquement aussi sensibles et plus spécifiques que les tests de dépistage, et la procédure de résolution des résultats divergents ou non confirmés doit être élaborée méthodiquement dans chaque laboratoire, à travers un algorithme écrit et de préférence géré informatiquement.

Cette gestion informatisée permet de prendre en compte, de façon automatique, les résultats antérieurs des donneurs connus et d'être alerté sans délai d'une discordance ou d'une séroconversion. Au terme de cette démarche de confirmation, le résultat sera déclaré « indéterminé » ou « positif » pour le dépistage considéré, et le donneur devra être informé par le service de la collecte, qui l'invitera à effectuer un contrôle et recherchera, dans un cadre épidémiologique structuré par l'InVS, les éventuels facteurs de risque, non identifiés au moment du don, d'agents transmissibles.

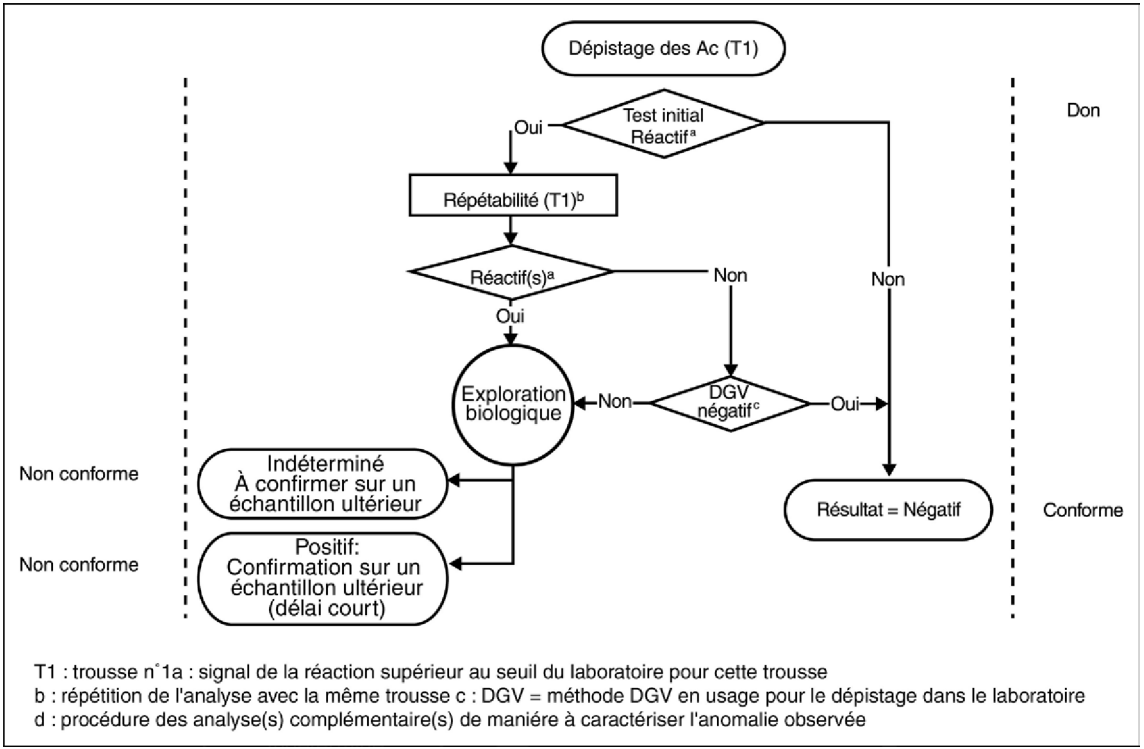


Figure 1.5. Exemple d'algorithme décisionnel inscrit dans le référentiel.

Tableau 1.10. Méthodes utilisées en France pour le dépistage des agents transmissibles par le sang.

Dépistage sérologique	Techniques utilisées en dépistage et confirmation
Syphilis	TPHA en France métropolitaine et test ELISA dans les départements d'outre-mer ; confirmation par immunoblot
Sérologie VIH-1 + 2 + O	Un seul ELISA associé au DGV du VIH-1 ; confirmation par immunoblot si nécessaire
Sérologie HTLV-I/II	ELISA ; confirmation par immunoblot
Sérologie VHC	ELISA associé au DGV du VHC : confirmation par immunoblot si nécessaire
Sérologie VHB	Antigène HBs et anticorps anti-HBc : tests ELISA ; confirmation par test de neutralisation de l'antigène HBs
Sérologie CMV	ELISA anti-IgG et IgM
Sérologie du paludisme	ELISA, puis deuxième test éventuel : immunofluorescence indirecte
Sérologie de la maladie de Chagas	Un seul test ELISA préparé à partir de lysat parasitaire, compléter par d'autres tests immunoenzymatiques préparés avec les protéines recombinantes, et/ou un dépistage en immunofluorescence indirecte

En cas de résultat positif, la plupart des laboratoires réalisent les mêmes dépistages sur la poche du PSL contenant du plasma, afin de confirmer que les tubes et les PSL appartiennent au même donneur, et pour retirer du circuit des dons les PSL comportant l'anomalie. Cette étape n'est pas obligatoire.

Ainsi, la qualification obéit, après le premier dépistage, à une logique du « tout ou rien » pour l'utilisation des PSL, et à une qualification binaire pour la qualification des PSL : « conforme » ou « non conforme ».

Le tableau 1.11 montre l'impact des résultats biologiques sur les PSL.

Organisation et équipements des laboratoires de QBD : moyens informatiques et matériels

Les analyses réalisées par laboratoire peuvent atteindre 300 millions de « B » pour les trois plus importants plateaux techniques régionaux de l'EFS. Ainsi, le nombre de dons à qualifier, le volume de tubes à gérer pour ces analyses, les démarches algorithmiques nécessitent une structure matérielle et informatique, une maîtrise des flux pour optimiser les temps d'analyse et une organisation des séries privilégiant les échantillons des PSL à durée de vie courte. Cela ne peut se concevoir qu'à travers une démarche permanente d'automatisation et d'informatisation des données alliant sécurité, fiabilité et rapidité.

Tableau 1.11. **Impact des résultats biologiques sur la conformité des PSL.**

Paramètre	Résultat	Concentré de globules rouges	Produits plaquettaires (CPA ou MCP)	Plasma thérapeutique	Plasma destiné au fractionnement
VIH	Négatif	Oui	Oui	Oui	Oui
	+ ou indéterminé	Non	Non	Non	Non
VHC	Négatif	Oui	Oui	Oui	Oui
	+ ou indéterminé	Non	Non	Non	Non
HTLV-I	Négatif	Oui	Oui	Oui	Oui
	+ ou indéterminé	Non	Non	Non	Non
Antigène HBs	Négatif	Oui	Oui	Oui	Oui
	+ ou indéterminé	Non	Non	Non	Non
Anticorps anti-HBc	Négatif	Oui	Oui	Oui	Oui
	+ ou indéterminé	Non	Non	Non	Non
Anticorps anti-HBc avec anticorps anti-HBs > 500 UI/ml	Négatif	Oui	Oui	Oui	Oui
	+ ou indéterminé	Non	Non	Non	Oui
Syphilis	Négatif	Oui	Oui	Oui	Oui
	+ ou indéterminé	Non	Non	Non	Non
Paludisme	Négatif	Oui	Oui	Oui	Oui
	+ ou indéterminé	Non	Non	Non	Oui
Chagas	Négatif	Oui	Oui	Oui	Oui
	+ ou indéterminé	Non	Non	Non	Non

▷

Paramètre	Résultat	Concentré de globules rouges	Produits plaquettaires (CPA ou MCP)	Plasma thérapeutique	Plasma destiné au fractionnement
CMV	Négatif	Oui avec qualificatif « CMV-négatif »	Oui avec qualificatif « CMV-négatif »	Oui	Oui
	+	Oui	Oui	Oui	Oui
RAI	Négatif	Oui	Oui	Oui	Oui
	+	Selon la spécificité de l'anticorps	Selon la spécificité de l'anticorps	Non	Non
Anti-A et/anti-B immuns	Négatif	Oui	Oui	Oui	Oui
	+	Oui avec mention « pour transfusion isogroupe »	Oui avec mention « pour transfusion isogroupe »	Oui	Oui
Taux de leucocytes*	Entre 2 500 et 15 000	Oui	Oui	Oui	Oui
	< 2 500 ou > 15 000	Non	Non	Non	Non
Taux d'hémoglobine*	< 11 g/dl	Mesure de la conformité de l'hémoglobine de la poche	Oui	Oui	Oui
Taux de plaquettes*	Entre 100 000** et 600 000	Oui	Oui	Oui	Oui
	< 100 000** ou > 600 000	Non	Non	Non	Non

* L'association de deux ou trois anomalies simultanées de la numération conduit à la destruction des PSL.
** La borne d'information des donneurs pour les plaquettes est de 120 000/mm^3.

La *phase pré-analytique*, comme dans tous les laboratoires, est fondamentale par le rôle de filtre qu'elle joue pour identifier toutes les anomalies qui ralentiraient le flux des analyses. Cependant, contrairement aux autres étapes d'analyses, où l'automatisation est avancée, cette étape est encore entièrement manuelle. Derrière cette phase, qui associe réception physique des tubes, vérification de leur conformité en termes de nombre, d'identification et de contenu, centrifugation des échantillons, tri par degré d'urgence, de type de donneur (connu ou non), besoin d'analyses supplémentaires, etc., et débouchage des tubes, vient la *phase analytique*. À ce stade, deux éléments forts entrent en jeu : l'informatisation et l'automatisation.

Informatisation

Les algorithmes d'analyses, indispensables à la sécurisation des étapes et au respect des procédures, pour être facilement et régulièrement reproduits, doivent permettre des conclusions systématiquement identiques pour des cas identiques et donc être gérés informatiquement. C'est pourquoi tous les laboratoires de QBD, sur l'ensemble du territoire national, sont équipés du même logiciel EOS spécifique à cette activité. Ce logiciel communique, de façon bidirectionnelle, avec le logiciel médico-technique où sont gérés les donneurs, les dons et les PSL. Il intègre toutes les analyses demandées pour un don, avec les données antérieures connues du donneur et les données de l'entretien pré-don, utiles à la qualification. Il va pouvoir recevoir des automates d'analyses :

- données sur les réactifs utilisés ;
- données des automates utilisés ;
- invalidations d'analyses liées à une alarme ou à un défaut bloquant les automates ;
- pour les analyses : soit les résultats bruts que ses paramétrages, par technique, seront capables d'interpréter en fonction des témoins du test et des contrôles internes, soit les résultats interprétés selon le niveau de l'automate avec le transfert des résultats des contrôles internes.

Dans tous les cas, il est possible de recevoir les résultats des contrôles de qualité internes qui agissent comme un second filtre de blocage des séries de résultats, et de valider analytiquement ces séries, en immunohématologie comme en sérologie virale, en fonction de bornes calculées comme acceptables et fixées actuellement dans le logiciel EOS. La lecture des algorithmes que gère le logiciel permet de suivre toutes les étapes de « répétabilité » et de confirmation ; le logiciel trace toutes les interventions humaines, sécurise les saisies manuelles, toujours doublées. Il déclenche également la demande de contrôle de la sérologie dans la poche de PSL en cas de positivité. Enfin, à travers le suivi des contrôles de qualité, il permet une maîtrise statistique des processus, essentiellement dans le cadre des techniques ELISA.

Pour la numération sanguine, un autre logiciel, appelé « MPL » et développé par Roche®, qui reçoit les informations du logiciel médico-technique, permet d'établir une conclusion de synthèse sur la conformité de la numération reçue des automates de numération. Ce logiciel transfère les résultats détaillés et le résultat de synthèse, en distinguant les anomalies isolées d'un seul paramètre des anomalies multiples avec, pour chaque type de résultat, un impact spécifique sur l'utilisation des PSL et/ou l'information des donneurs.

Automatisation et équipements

Les volumes de tubes à traiter et d'analyses à réaliser dans des temps limités expliquent la recherche permanente d'automates complets et sécurisés, du tube au résultat, permettant un contrôle et une identification de tous les éléments participant à la fiabilité du résultat : identification sécurisée des échantillons, des volumes prélevés, des réactifs distribués et consommables utilisés, de l'opérateur et des alarmes identifiées au cours de l'analyse. Toutes les analyses réalisées font appel à des techniques éprouvées du diagnostic sur des automates validés et répondant aux directives européennes sur les dispositifs médicaux de diagnostic *in vitro* transposées en droit français :

- en immuno-hématologie, pour les groupages sanguins, les automates de grande cadence (Olympus PK7200 et PK7300), ouverts à différents réactifs, sont identiques dans tous les laboratoires de métropole. Ils sont associés, pour la recherche d'anticorps antiérythrocytaires, à des automates complets fermés, très sécurisés, liés à des réactifs spécifiques fournis par le fabricant ;
- pour la numération sanguine, qui a été introduite en 2008, les automates ont été sélectionnés après une validation des quatre principaux automates proposés. Actuellement, ils sont progressivement déployés dans tous les laboratoires de l'EFS. Certains laboratoires ont associé ces automates (XE 2100D Sysmex®) à un convoyeur dont l'utilisation fluidifie et automatise le chargement des tubes entre les différents analyseurs, et augmente les cadences de traitement ;
- en sérologie virale, les chaînes de dépistage sont de deux types :
  - soit des distributeurs d'échantillons sur microplaques d'analyse associés à des automates qui vont gérer toutes les étapes de la technique ELISA, permettant l'utilisation de différents réactifs sélectionnés (automates dits « ouverts ») ;
  - soit des automates complets mais fermés, avec des réactifs et des consommables dédiés à cinq dépistages seulement (PRISM-ABBOTT®) ;
- pour le DGV — mis en place en 2001 afin de réduire le risque lié aux fenêtres sérologiquement muettes du VIH-1 et du VHC puis, en 2010, du VHB —, ce sont des techniques (Ulltrio® Novartis, sur automates Tigris® dans neuf régions), validées en termes de sensibilité, qui ont été évaluées et mises en place avec le souci permanent de la fiabilité des résultats et donc

de la sécurisation des manipulations et des données par l'automatisation et par l'informatisation, avec une traçabilité complète des étapes analytiques de leur validation, de l'interprétation et du transfert des résultats des « chaînes » DGV vers le logiciel EOS.

Développements à venir et enjeux

Ces développements s'orientent vers plus d'automatisation intégrée, vers plus de systèmes « fermés » toujours plus sécurisés. Ils concernent notamment l'automatisation indispensable de la phase pré-analytique et de la phase post-analytique qui restent actuellement en gestion entièrement manuelle. De façon exemplaire, le renouvellement des chaînes DGV pose la question de l'apport d'une technologie de dépistage unitaire — avec ses coûts — par rapport à une technologie en mini-pools pour les mêmes dépistages VIH-1 + 2 + O, VHC et VHB. En termes de santé publique, le coût que représenteraient ces infections évitées doit être calculé, mesuré et comparé au coût induit par le dépistage unitaire par rapport à celui du dépistage en mini-pools, en tenant compte du risque résiduel actuel de prélever un don en période de virémie indétectable. La réduction actuellement envisagée du nombre de plateaux techniques a pour objet d'engendrer des économies favorables et de nouveaux développements.

L'avenir et l'introduction de la *Polymerase Chain Reaction* (PCR) en temps réel pour des dépistages plus ciblés en routine, comme le dépistage du paludisme, sont envisageables et même prévus par la directive européenne 2004/33/CE (10), mais cette technologie doit être maîtrisée et stabilisée, transposable dans tous les laboratoires avec une sensibilité validée et établie. Elle permettrait de s'affranchir des recherches peu spécifiques d'anticorps et de n'écarter que des dons comportant un risque parasitaire réel.

Pour les groupages sanguins, les techniques de biologie moléculaire restent actuellement réservées aux groupages de certains transfusés au long cours (comme les patients drépanocytaires), afin de préserver leur avenir transfusionnel. Mais l'identification de sujets ayant des groupes sanguins de très basse fréquence est aussi indispensable pour alimenter la banque de sangs rares congelés. Les développements de puces à ADN, avec interprétation informatisée des données par interrogation de bases de données, ou d'autres techniques en cours de validation deviennent une réalité, avec une grande fiabilité même dans les groupes sanguins affaiblis, partiels ou rares, avec une rapidité d'exécution qui devient compatible avec les besoins de la QBD. Les investissements nécessaires restent toutefois encore trop onéreux et le bénéfice en sécurité transfusionnelle non évalué.

L'introduction des nanotechnologies ou des techniques issues de l'étude du protéome d'un compartiment cellulaire ou sérique pour les dépistages d'agents transmissibles connus ou émergents, bien que très prometteuse en

termes de sensibilité et de spécificité de ces agents identifiés sur leur profil protéique, apparaît plus lointaine dans la pratique quotidienne des laboratoires de QBD. En effet, ces laboratoires ne doivent employer que des technologies éprouvées, de sensibilité et de spécificité connues et efficaces, rapides, applicables à grande échelle et d'interprétation standardisée pour l'utilisation des PSL et pour l'information des donneurs, et les contraintes de coûts sont aussi à prendre en compte.

Conclusion

Les laboratoires de QBD ont un devoir et une obligation de fiabilité et de sensibilité maximales des résultats rendus. Ils ont donc à mettre en place les moyens humains, techniques, matériels, informatiques, organisationnels, les validations de méthodes, la traçabilité des opérations et l'analyse de risque de toutes les étapes du processus d'analyse, pour garantir des résultats fiables et obtenus dans des temps compatibles avec l'utilisation optimale des PSL, et ceci à des coûts maîtrisés. Les laboratoires de QBD participent, au sein de la chaîne transfusionnelle, à la sécurité transfusionnelle des receveurs, tant sur le plan immuno-hématologique que sur celui de la prévention de la contamination par les agents transmissibles par le sang, tout en gardant à l'esprit le respect du donneur et de son don, par l'utilisation de réactifs sélectionnés et de méthodes maîtrisées. L'amélioration permanente de la qualité inscrit ainsi la veille scientifique et technique au cœur des préoccupations de l'activité de QBD.

2 Connaissance des composants du sang

2.1 Hématopoïèse

L'hématopoïèse est un processus physiologique complexe, destiné à la production et au renouvellement des cellules sanguines. Cette formidable machinerie permet ainsi, chez l'homme adulte, le renouvellement quotidien d'environ dix mille milliards de cellules sanguines par jour.

Dans bien des contextes de défaillances quantitatives ou qualitatives de l'hématopoïèse, ses limites maximales de production, ses limites cinétiques de renouvellement des cellules vont constituer autant de situations où le support transfusionnel peut jouer un rôle essentiel. En conséquence, la connaissance, même partielle, des fonctionnements de l'hématopoïèse est un élément important pour comprendre les mécanismes et le bien-fondé de l'efficacité thérapeutique des produits sanguins labiles.

Le sang produit est constitué d'une suspension de cellules baignant dans le plasma. Ces cellules appartiennent à trois catégories : les globules rouges (ou érythrocytes, ou hématies), les globules blancs (ou leucocytes), les plaquettes (ou thrombocytes). Le lieu de production des cellules sanguines chez l'adulte est la moelle osseuse (chez l'embryon, il est dans le foie, la rate et la moelle). Ce site de production est constitué de deux tissus distincts, bien qu'étroitement entremêlés :

- les cellules myéloïdes, qui donnent naissance à des cellules aux fonctions très variées : les globules rouges (qui transportent l'oxygène du poumon aux tissus), les polynucléaires neutrophiles (impliqués dans les défenses antibactériennes), les monocytes (impliqués dans les réactions immunitaires), les polynucléaires éosinophiles et basophiles (impliqués dans des réactions d'allergie), les plaquettes, éléments essentiels de l'hémostase primaire (figure 2.1) ;
- les cellules lymphoïdes, constituées morphologiquement de lymphocytes et de plasmocytes, qui sont les supports des réactions immunes spécifiques. Les lymphocytes ont une circulation complexe, transitant par les organes lymphoïdes (ganglions lymphatiques, thymus, rate) et les tissus avant de circuler dans le sang (figure 2.2).

Cellules souches

Pour assurer le renouvellement quotidien des diverses lignées sanguines, il existe, au sein de la moelle osseuse, des cellules dites « souches », lesquelles assurent leur propre renouvellement et la production de cellules

© 2015 Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

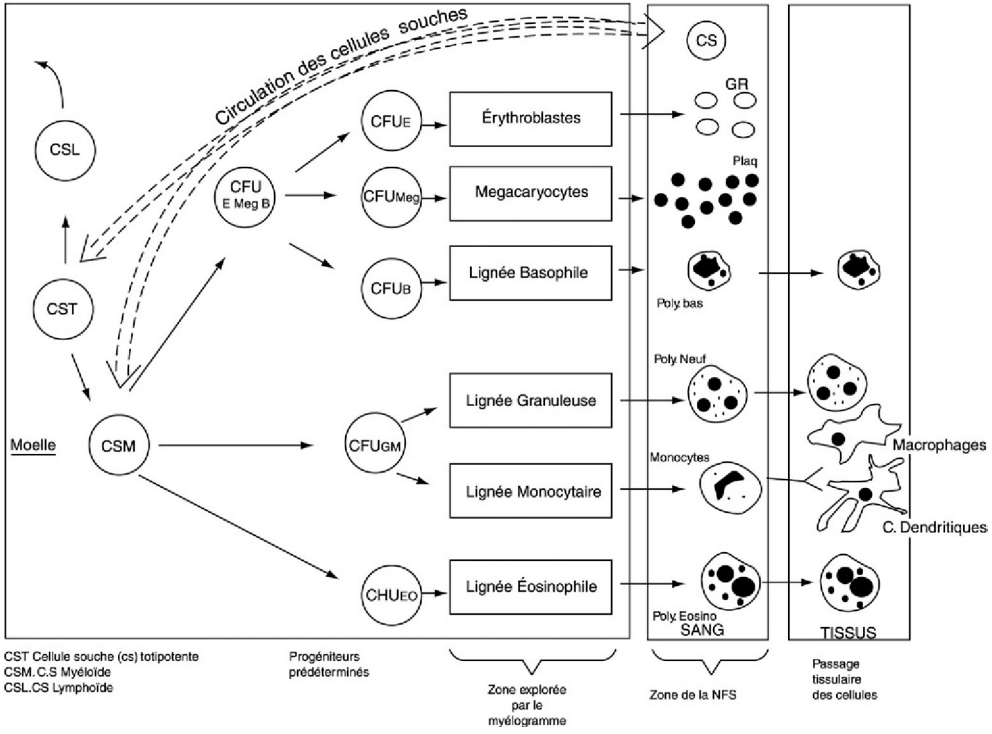


Figure 2.1. Schéma simplifié de l'hématopoïèse.

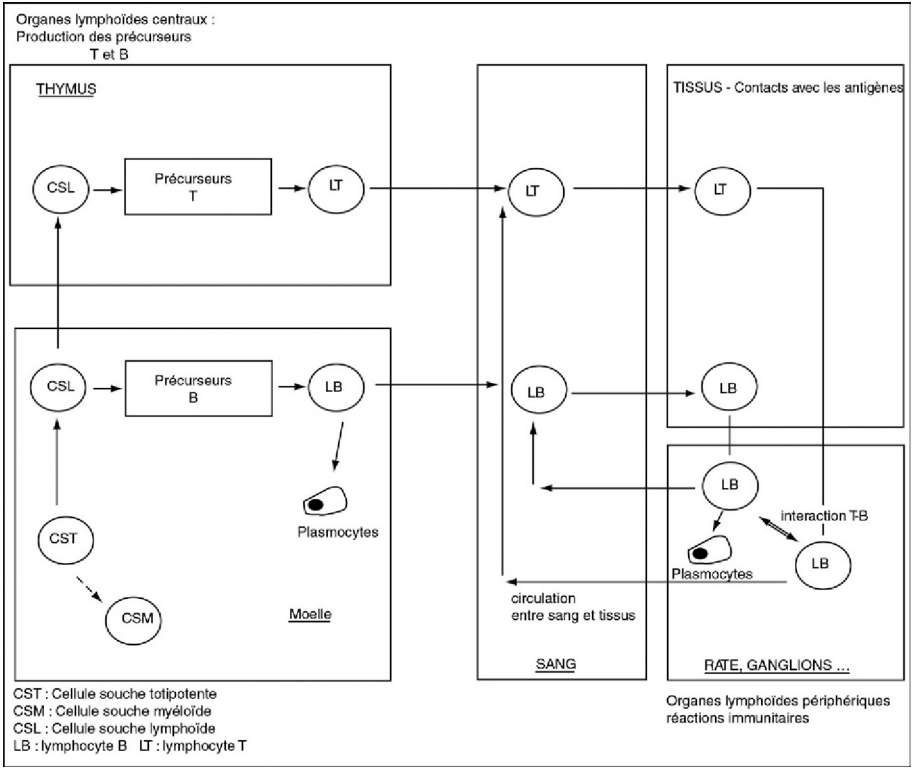


Figure 2.2. Schéma simplifié de la lymphopoïèse.

différenciées (hématies, plaquettes et leucocytes). Il existe des cellules souches communes à toutes les cellules myéloïdes et lymphoïdes, mais elles demeurent encore mal caractérisées. De possibles « passerelles » existeraient entre les deux voies, mais leur cheminement fait encore débat.

Principalement localisées dans des niches au sein de la moelle, les cellules souches sont également présentes à très faible concentration dans le sang, circulant d'un compartiment à l'autre. Trop peu nombreuses, par rapport aux cellules différenciées, et sans caractères morphologiques permettant leur identification, les cellules souches et les progéniteurs ne sont pas identifiés sur le myélogramme. On les met donc en évidence par des méthodes expérimentales, comme la reconstruction de l'hématopoïèse chez des souris irradiées et immunodéficientes et, chez l'homme, par greffe de moelle. Seules les cellules souches totipotentes peuvent reconstituer et entretenir l'hématopoïèse à long terme.

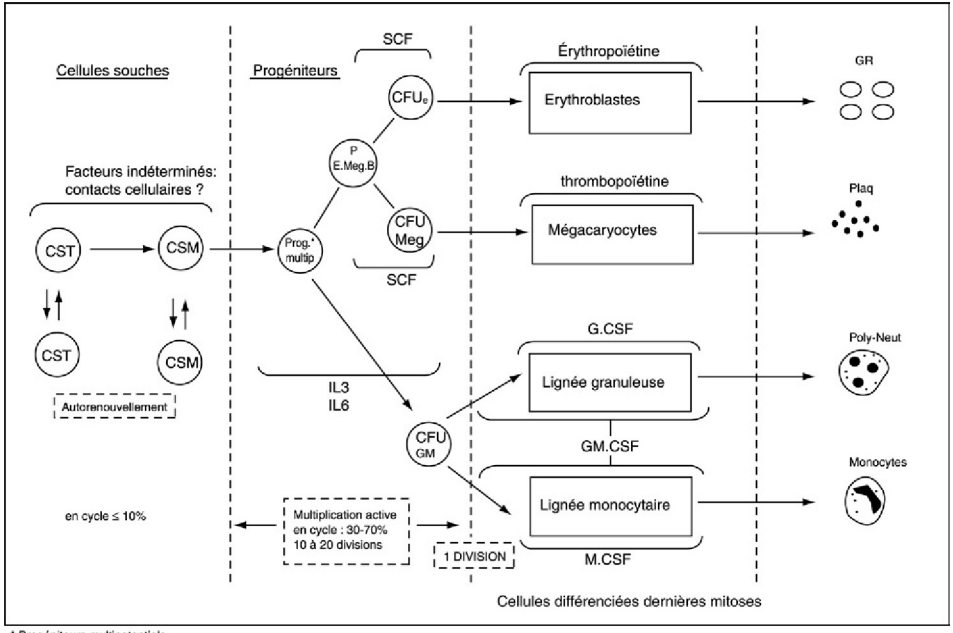
On étudie les progéniteurs par des méthodes de cultures, qui permettent de cloner ceux qui forment des colonies de cellules hématopoïétiques et d'en identifier la différenciation. En raison de leur aptitude à former ces colonies, on les appelle des CFU (*Colony Forming Unit*) : CFU-E, CFU-G ou CFU-GM, par exemple, respectivement pour les progéniteurs érythroïdes, granuleux ou granulo-monocytaires.

On distingue deux niveaux de cellules « souches » : les *cellules souches totipotentes*, qui sont capables de donner naissance à n'importe quelle cellule sanguine issue de la moelle osseuse comme d'assurer le maintien d'un pool constant de cellules totipotentes, et les *cellules souches prédifférenciées* (ou « progéniteurs »), dérivées des précédentes et se différenciant progressivement vers une lignée précise. Ces progéniteurs subissent de nombreuses divisions avant leur différenciation définitive.

Il existe, entre les cellules souches multipotentes et les progéniteurs définitivement déterminés vers une lignée, des progéniteurs aux potentialités intermédiaires. Ainsi, cellules érythroïdes, mégacaryocytaires et basophiles-mastocytes ont un ancêtre commun. Les polynucléaires neutrophiles et les monocytes dérivent d'un précurseur commun déjà relativement différencié. Ce schéma fait apparaître que les cellules myéloïdes différenciées (érythroblastes, précurseurs des granuleux et des mégacaryocytes) ne représentent qu'une partie très minime et terminale de l'organe de production médullaire. La différenciation progressive des cellules souches résulte de phénomènes complexes et encore incomplètement élucidés.

Facteurs de croissance hématopoïétiques

La régulation de l'hématopoïèse est un phénomène complexe (figure 2.3), où vont intervenir les cellules hématopoïétiques elles-mêmes, le microenvironnement médullaire (cellules endothéliales et fibroblastes, entre



* Progéniteurs multipotentiels

Figure 2.3. Régulation de l'hématopoïèse.

autres), ainsi que de nombreuses cytokines, comme les facteurs de croissance hématopoïétiques, élaborées au sein même de la moelle osseuse ou en provenance d'autres organes, comme le foie ou le rein. Ces cytokines agissent à des niveaux variables, régulant la multiplication, la différenciation ou l'apoptose des cellules : certaines sont actives à un niveau primitif et peu sélectif, comme le *Stem Cell Factor* qui, contrairement à sa dénomination, n'agit pas sur les cellules souches totipotentes, mais favorise l'action des facteurs suscités ; d'autres agissent préférentiellement sur la différenciation terminale : érythropoïétine pour la lignée érythroïde, thrombopoïétine pour la lignée mégacaryocytaire plaquettaire, G-CSF pour les granulocytes neutrophiles, M-CSF pour les monocytes, IL-5 pour les éosinophiles.

Les cellules souches totipotentes ont un faible taux de renouvellement. Elles sont donc rarement en mitose. En revanche, les cellules prédifférenciées ont un taux de renouvellement d'autant plus élevé qu'elles sont plus proches des cellules matures.

Tous ces facteurs de croissance agissent par l'intermédiaire de récepteurs spécifiques. Il est probable que l'apparition et la disparition de ces récepteurs à la membrane cellulaire jouent un rôle déterminant dans les mécanismes de programmation de la différenciation. Schématiquement, il apparaît que les progéniteurs expriment les récepteurs de plusieurs facteurs, mais en faible abondance. Au cours de la différenciation, l'expression se restreint et se limite finalement au récepteur d'un facteur donné, qui devient alors très abondant, ce qui favorise l'orientation vers la lignée correspondante. Des facteurs de transcription, plus ou moins spécifiques d'un stade et d'un type de différenciation, exprimés dans les cellules souches et les progéniteurs, jouent un rôle capital. Leur rôle est mis en évidence par l'inactivation du gène correspondant chez la souris. Ainsi, l'inactivation de GATA-1 inhibe la différenciation érythroïde, celle de PU-1 la différenciation granulo-monocytaire, celle du facteur TAL/SCL l'ensemble de la myélopoïèse, etc.

Immunophénotype des cellules hématopoïétiques

L'expression des molécules de différenciation qui apparaissent ou disparaissent selon les étapes peut être mise en évidence à l'aide d'anticorps monoclonaux dont la spécificité est de mieux en mieux validée. Le profil d'expression de ces molécules dites CD (pour « cluster de différenciation ») est propre à certaines étapes. Ainsi, les cellules souches les plus immatures appartiennent en majorité à la catégorie des cellules $CD34^+$ $CD38^-$. Le « marqueur » CD34, qui est donc exprimé par les cellules souches, est très utilisé

pour l'isolement de celles-ci. Cependant, ce marqueur est aussi exprimé sur de nombreuses cellules myéloïdes plus mûres que les cellules souches.

Érythropoïèse

C'est le processus de production des globules rouges matures. Cette production représente le plus haut rendement du système hématopoïétique, avec une production estimée à 200 milliards d'hématies par jour. Ce processus est finement régulé par l'effet combiné du micro-environnement et des facteurs de croissance comme l'Epo (produite par le rein), lesquels permettent la survie, la prolifération, la différenciation ou l'apoptose des progéniteurs érythroïdes. Si la durée de vie des globules rouges est immuable (environ 120 jours), l'érythropoïèse peut, en cas de besoins accrus, s'adapter et produire jusqu'à huit fois plus d'hématies. L'Epo est désormais largement utilisée en thérapeutique pour augmenter la production des hématies dans certaines formes d'anémies. De nombreuses formes d'anémies centrales (insuffisance rénale chronique, myélodysplasie, anémie chimio-induite) peuvent bénéficier de l'administration thérapeutique d'Epo, permettant parfois la réduction des besoins transfusionnels en concentrés érythrocytaires.

Thrombopoïèse

Chaque jour, la moelle osseuse renouvelle environ 10 % des plaquettes circulantes, au terme d'un processus qui dure lui-même une dizaine de jours. Les CFU-GEMM issues des cellules souches totipotentes se différencient en précurseurs de type CFU-MK (*Colony Forming Unit Megakaryocyte*), qui donneront les mégacaryoblastes. Après une série d'endomitoses, le noyau devient polyploïde : il décuple son stock d'ADN comme dans toute mitose, mais la division cellulaire ne se produit plus. Ces fausses divisions conduisent à produire des cellules volumineuses (de 100 à 150 μm), dont le noyau comporte jusqu'à 128 fois la quantité normale d'ADN. La fragmentation de chacune de ces cellules entraîne la libération dans le sang de 1 000 plaquettes ou plus. La principale hormone régulant de manière positive la production de ces plaquettes est produite par le foie : il s'agit de la thrombopoïétine, qui possède des récepteurs à la surface de cellules de la lignée mégacaryocytaire. Cette hormone est directement régulée par la masse mégacaryocytaire et plaquettaire : plus les récepteurs (et donc les cellules) sont nombreux, plus le taux de thrombopoïétine se trouvera réduit, et inversement. Des analogues de la thrombopoïétine sont à présent en étude d'évaluation. Dans l'avenir, ces molécules pourraient constituer une modalité d'épargne des besoins transfusionnels en plaquettes dans certaines indications actuelles des thrombopénies centrales.

2.2 Membrane du globule rouge : biochimie, génétique moléculaire

Le globule rouge, cellule anucléée représentant le dernier stade de différenciation de la lignée érythroïde, a longtemps été considéré comme un « sac à hémoglobine » ayant pour seule fonction essentielle de délivrer l'oxygène dans les tissus. Les études génétiques, biochimiques et fonctionnelles de ces deux dernières décennies donnent aujourd'hui une image beaucoup plus complexe de cette cellule.

La membrane du globule rouge peut être représentée schématiquement comme une bicouche lipidique, sous-tendue par un squelette membranaire dépendant de la spectrine, et dans laquelle sont enchâssées ou ancrées différentes protéines membranaires. Nombre de ces protéines membranaires sont porteuses d'antigènes de groupes sanguins. En dehors de leur intérêt en médecine transfusionnelle, ces protéines de groupes sanguins possèdent des fonctions aussi diverses que celles décrites pour les protéines membranaires des tissus non érythroïdes.

Diversité structurale et fonctionnelle des antigènes de groupes sanguins

Le tableau 2.1 indique que certains antigènes de groupes sanguins, parmi lesquels ceux du système ABO, ne sont pas les produits directs des gènes de groupes sanguins, puisqu'ils sont portés par des sucres ajoutés grâce à l'activité de glycosyltransférases sur des glycoprotéines et/ou des glycolipides membranaires. Ces glycosyltransférases sont donc les produits directs des gènes de groupes sanguins, et ce sont les polymorphismes conduisant à des modifications de l'activité de ces enzymes qui sont à l'origine des polymorphismes phénotypiques dans les systèmes ABO, H, Lewis, P, P1PK et I. À l'inverse, vingt-quatre des trente-trois systèmes de groupes sanguins sont l'expression directe de polymorphismes de gènes de groupes sanguins. Les produits de ces gènes sont des protéines membranaires glycosylées, à l'exception des protéines Rh (D et CE) et Kx qui ne sont pas glycosylées. On peut également différencier ces protéines de groupes sanguins selon leur topologie membranaire, un (Lu/BCAM, Lw/ICAM-4, Kell…) ou plusieurs (Rh, RhAG, Kx, Bde-3, AQP-1/3…) passages transmembranaires, ou bien encore selon qu'elles sont uniquement reliées à la face supérieure de la bicouche lipidique par une ancre glycophosphatidylinositol (protéines « *GPI-linked* » : Dombrock, CD55…).

Cette diversité structurale est illustrée dans la figure 2.4 représentant schématiquement les structures tridimensionnelles des antigènes Rh, Duffy, Luthéran, Jr et Langereis. Ces structures sont obtenues soit par des études cristallographiques des protéines de groupes sanguins elles-mêmes (deux

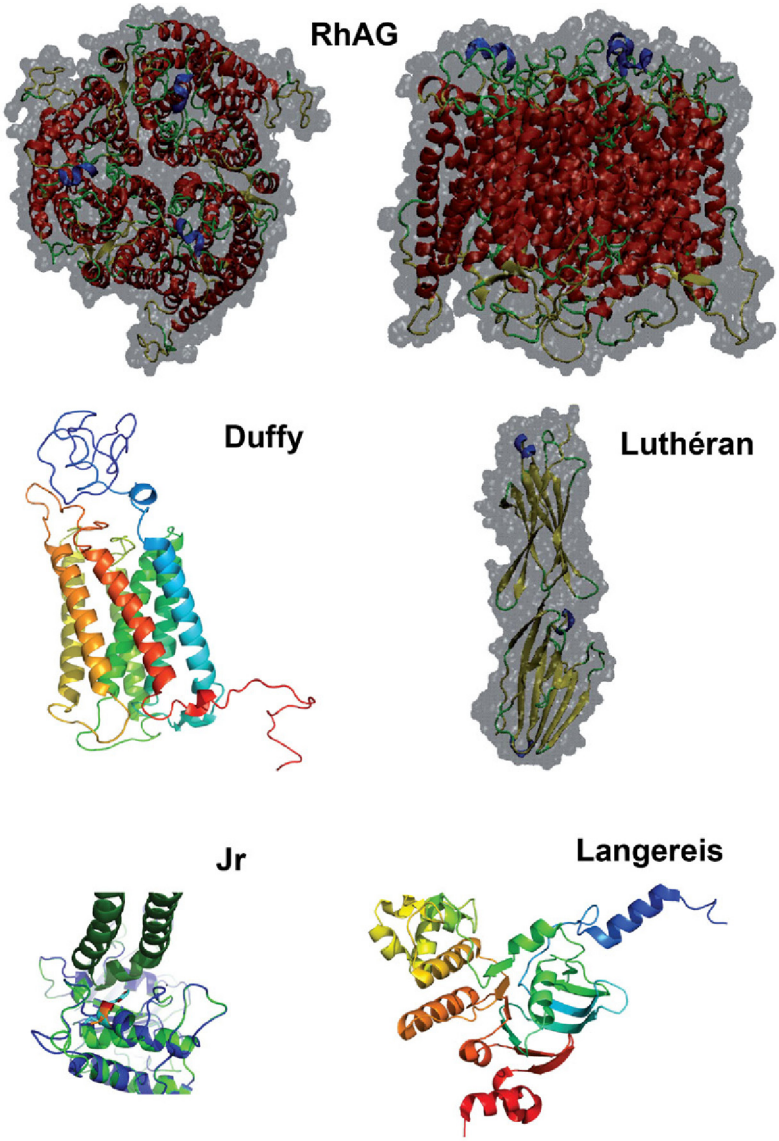


Figure 2.4. Structures tridimensionnelles des antigènes Rh, Duffy, Luthéran, Jr et Langereis.

premiers domaines extracellulaires de Lu/BCAM) soit par des analyses *in silico* permettant de modéliser l'organisation d'une protéine d'intérêt à partir des données expérimentales sur des protéines homologues (structure de la protéine RhAG modélisée à partir de celle de son homologue épithélial RhCG ; structure de l'antigène Duffy modélisée à partir de celle de la rhodopsine bactérienne). La production, la purification et la cristallisation des différents antigènes de groupes sanguins sont un domaine de recherche très actif car permettant à terme d'avoir une image « réelle » de ces antigènes souvent plusieurs décennies après leur mise en évidence sérologique, et permettant de comprendre, conjointement avec d'autres types d'approches expérimentales, leur mode de fonctionnement et, en particulier, la manière dont ils interagissent avec leurs différents ligands extra- et intracellulaires.

À cette diversité structurale des antigènes de groupes sanguins est associée une diversité fonctionnelle, démontrée expérimentalement ou déduite de la fonction de protéines homologues exprimées dans des tissus non éryhroïdes. On peut ainsi classer différemment les antigènes de groupes sanguins selon que les molécules qui les portent ou celles qui sont responsables de leur synthèse ont des propriétés enzymatiques de transporteur ou de canal, de récepteur pour des bactéries, virus ou parasite, de molécule d'adhérence et/ou structurale (tableau 2.1). La figure 2.5 montre une représentation schématique de cette diversité fonctionnelle. Pour exemple, les antigènes Duffy sont portés par une glycoprotéine à sept domaines transmembranaires (DARC) qui est l'unique récepteur érythroïde de différentes classes de chimiokines ainsi que des mérozoïtes de *Plasmodium vivax*. Ainsi, le phénotype Duffy négatif, dû à l'absence d'expression de la protéine DARC dans les cellules de la lignée érythroïde, représente le seul exemple de résistance totale à une maladie infectieuse ou virale associée à une mutation génique unique. En revanche, l'expression de la protéine DARC dans les cellules endothéliales n'étant pas affectée, les individus DARC négatif ne présentent pas de pathologie particulière. Les antigènes Gerbich sont portés par la glycophorine C, sialoglycoprotéine traversant une seule fois la membrane et jouant un rôle important dans le maintien des propriétés mécaniques du globule rouge comme l'atteste l'anémie hémolytique associée à l'elliptocytose héréditaire (HE) caractéristique des hématies Gerbich négatif (phénotype Leach). Les antigènes Kell sont également portés par une glycoprotéine à un domaine transmembranaire et dont l'expression est associée à celle de la glycophorine C. Ainsi, l'expression de Kell est diminuée chez certains variants Gerbich négatif. La glycoprotéine Kell est dotée d'une activité enzymatique de métalloprotéase à zinc capable de cliver le précurseur de l'endothéline 3, un neuropeptide sécrété par l'endothélium vasculaire, ayant un effet vasoconstricteur puissant sur les cellules musculaires lisses. Les antigènes majeurs de groupe sanguin Rh sont portés par des protéines à douze domaines transmembranaires (RhD et RhCE chez les individus Rh positif ; RhCE seulement chez les

Tableau 2.1. Classification structurale et fonctionnelle des groupes sanguins humains.

Système	Symbole	Nature de l'épitope (ou de l'élément qui le porte)	Classe fonctionnelle Produit génique	Rôle biologique dans les GR
			Enzyme	
ABO	ABO	Ose (glycoprotéine, glycolipide)	3αD-GalNac/galtransférase	?
H	H	Ose (glycoprotéine, glycolipide)	2αL-Fuc-tranférase	?
Lewis	LE	Ose (glycoprotéine, glycolipide)	3,4αL-Fuc-transférase	Récepteur *H. pylori*, toxines bactériennes
Yt	YT	Glycoprotéine (« *GPI-linked* »)	Acétylcholine estérase	?
Kell	KEL	Glycoprotéine	Glycoprotéine Kell	Métalloprotéase à Zn
Dombrock	DO	Glycoprotéine (« *GPI-linked* »)	Glycoprotéine Dombrock	ADP-ribosyl-transférase ?
Globoside	P	Ose (glycolipide)	β3-GlcNac-transférase	4αD-Gal-transférase ? Récepteur *E. coli*
P1PK	P1PK	Ose (glycolipide)	P1-transférase	Récepteur B19
I	I	Ose (glycoprotéine, glycolipide)	β6-GlcNac-transférase	?
			Transporteur/canal	
Rh	RH	Protéine	Protéines RhD et RhCE	Ancrage bicouche lipidique/squelette
Rh--*Associated Glycoprotein*	RAG	Glycoprotéine	Glycoprotéine RhAG	Canal NH_3 (CO_2 ?)
Kidd	JK	Glycoprotéine	Glycoprotéine Kidd	Transporteur d'urée
Colton	CO	Glycoprotéine	Glycoprotéine AQP-1	Transporteur d'eau
Kx	XK	Protéine	Glycoprotéine Kx	Transporteur d'acides aminés ?

▷

Système	Symbole	Nature de l'épitope (ou de l'élément qui le porte)	Classe fonctionnelle Produit génique	Rôle biologique dans les GR
Diego	DI	Glycoprotéine	Bande 3/AE1	Échangeur d'anion (Cl^-/HCO_3^-)
Gill	GIL	Glycoprotéine	Glycoprotéine AQP-3	Transporteur d'eau, de glycérol
Jr	JR	Protéine	ATP-binding cassette transporter ABCG2	Export de composés toxiques
Langereis	LAN	Protéine	ATP-binding cassette transporter ABCB6	Export de composés toxiques
			Récepteur	
MNS	MNS	Sialoglycoprotéines	Glycophorines A et B	Lie *P. falciparum*, bactéries, virus
Duffy	FY	Glycoprotéine	Glycoprotéine DARC	Récepteur de *P. vivax*/chimiokines
Cromer	CROM	Glycoprotéine (« *GPI-linked* »)	CD55	Récepteur d'*E. coli*, entérovirus, C3b
Knops	KN	Glycoprotéine	CR1	Récepteur d'immuns complexes, liaison à *P. falciparum*
			Molécule d'adhérence	
Lutheran	LU	Glycoprotéine	Lu/BCAM	Lie la laminine, l'intégrine $\alpha_4\beta_1$
Landsteiner-Wiener	LW	Glycoprotéine	ICAM-4	Lie de nombreuses intégrines
Xg	XG	Glycoprotéine	Xg	Ligand ?
Scianna	SC	Glycoprotéine	ERMAP	Ligand ?
Ok	OK	Glycoprotéine	CD147	Lie la fibronectine
John Milten Hagen	JMH	Glycoprotéine (« *GPI-linked* »)	Sémaphorine 7A	Ligand ?

Système	Symbole	Nature de l'épitope (ou de l'élément qui le porte)	Classe fonctionnelle Produit génique	Rôle biologique dans les GR
Raph	RAPH	Glycoprotéine	MER2/CD151	Tétraspanine Ligand ?
Indian	IN	Glycoprotéine	CD44	Lie acide hyarulonique, collagène, fibronectine
			Protéine structurale	
Gerbich	GE	Sialoglycoprotéine	Glycophorine C	Ancrage bicouche lipidique/ squelette
			Autres	
Chido/ Rodgers	CH/RG	Protéine	C4	Régulation du complément

individus Rh négatif) associées à une autre protéine à douze domaines transmembranaires, la glycoprotéine RhAG (pour *Rh-Associated Glycoprotein*) porteuse des antigènes du système de groupe sanguin RhAG, dernier identifié des trente systèmes de groupes sanguins. L'association des protéines Rh et RhAG avec d'autres protéines membranaires (Lw/ICAM-4, glycophorine B et CD47) forme le complexe membranaire Rh qui est lui-même associé, au travers d'une interaction commune avec l'ankyrine, à la protéine bande 3/AE-1 porteuse des antigènes de groupe sanguin Diego. Ce regroupement de protéines transmembranaires forme le macrocomplexe ou métabolon Bde 3/Rh doté d'activité de canal à ammonium (protéine RhAG) et d'échangeurs chlore-bicarbonate (Bde 3/AE-1). Ce macrocomplexe Bde 3/Rh joue également un rôle structural important au niveau de la membrane du globule rouge puisque des mutations ou l'absence d'expression de bande 3, Rh et RhAG conduisent à des anomalies de la morphologie et de la rigidité des globules rouges associées ou non à une anémie hémolytique — bande 3 mutée : phénotype *South Asian Ovalocytosis* (SAO) ou HS ; absence de Rh et/ou RhAG : phénotype Rh_{null} caractérisé par une stomatosphérocytose des globules rouges et une anémie hémolytique de sévérité variable.

De façon inattendue pour une cellule qui n'a pas vocation à adhérer à l'endothélium vasculaire ni à former des agrégats avec d'autres cellules sanguines, tout du moins dans des conditions physiologiques, de nombreuses molécules d'adhérence ont été caractérisées dans le globule rouge, dont un grand nombre sont porteuses d'antigènes de groupes sanguins (tableau 2.1). Pour exemple, les glycoprotéines Lu/BCAM, porteuses des antigènes Luthéran, et

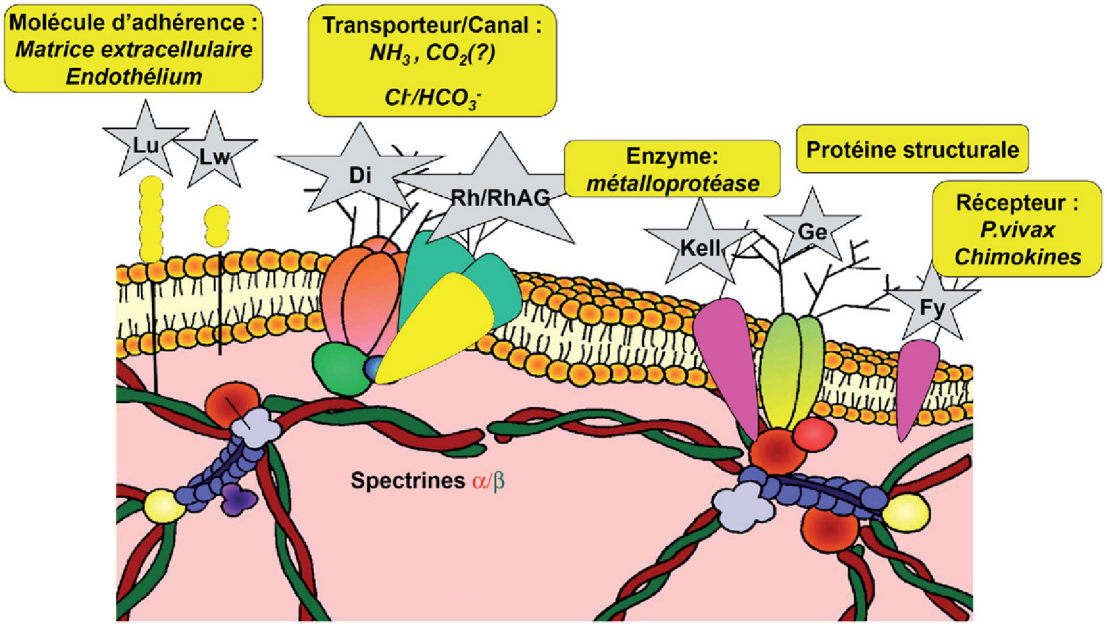


Figure 2.5. Diversité fonctionnelle des protéines porteuses d'antigènes à la surface du globule rouge.

ICAM-4, porteuse des antigènes Lw, sont représentées dans la figure 2.6. Ces protéines d'adhérence de la famille des immunoglobulines joueraient un rôle dans la différenciation érythroïde terminale normale, en participant notamment à la formation des îlots érythroblastiques, à l'expulsion des noyaux précédant la formation des réticulocytes et au passage des précurseurs érythroïdes de la moelle osseuse dans la circulation sanguine. Le rôle de ces antigènes de groupes sanguins en tant que molécule d'adhérence a surtout été mis en évidence dans des situations pathologiques comme la drépanocytose, la polyglobulie de Vaquez ou la sphérocytose héréditaire. Différentes molécules d'adhérence du globule rouge, dont Lu/BCAM et Lw/ICAM-4, sont impliquées dans des interactions des globules rouges avec l'endothélium vasculaire et/ou les leucocytes et participent ainsi aux phénomènes thrombotiques et/ou de vaso-occlusion caractéristiques de ces pathologies. L'étude de ces phénomènes d'adhérence anormale a mis en évidence le fait que le globule rouge, bien que dépourvu de noyau et d'ARN, n'est pas une « cellule inerte » mais une cellule capable de répondre à des stimulus extérieurs pour envoyer des signaux vers des molécules ou des domaines protéiques cytoplasmiques. Ainsi, comme illustré dans la figure 2.6, le récepteur β_2-adrénergique, en réponse à une situation de stress conduisant à une augmentation du taux d'adrénaline, permet chez les patients drépanocytaires (GR SS) l'activation

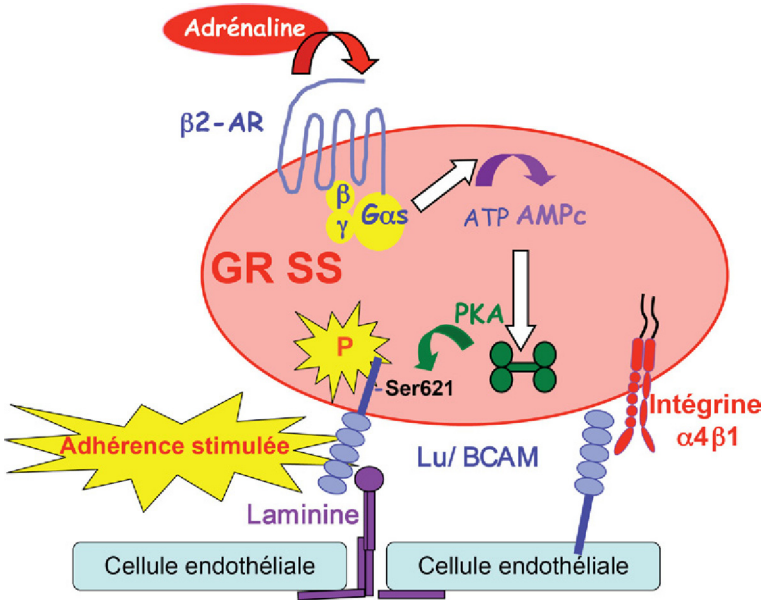


Figure 2.6. Cascade de signalisation depuis les récepteurs β_2-adrénergiques du globule rouge chez le patient drépanocytaire GR SS, induisant une augmentation de l'adhérence.

d'une cascade de signalisation aboutissant à la phosphorylation de la région C-terminale cytoplasmique de Lu/BCAM. La molécule Lu/BCAM ainsi phosphorylée, acquiert la propriété d'interagir avec la laminine — composant majeur de la matrice extracellulaire exposé au niveau de l'endothélium vasculaire, endommagé chez les drépanocytaires — ou encore avec l'intégrine $\alpha_4\beta_1$ leucocytaire. L'adrénaline stimule des récepteurs β-adrénergiques, augmente le taux AMPc, stimulant à son tour la protéine kinase A qui phosphoryle certaines cibles. Il y a une augmentation de l'adhérence des GR SS à la laminine et également à l'endothélium. Ceci passe par les récepteurs Lu/BCAM par l'intermédiaire de leur phosphorylation spécifique.

Le squelette membranaire dépendant de la spectrine : un réseau protéique indispensable au maintien de la structure et de l'organisation fonctionnelle de la membrane du globule rouge

Les globules rouges humains sont caractérisés par leur forme en disque biconcave, leur capacité à subir des déformations importantes et leur résistance au stress mécanique généré par leur passage répété dans la microvasculature durant les 120 jours de leur vie. Ces propriétés mécaniques et élastiques particulières relèvent de la présence et de l'intégrité du squelette membranaire dépendant de la spectrine localisé sous la bicouche lipidique. L'importance du squelette dépendant de la spectrine a tout d'abord été démontrée dans des anémies hémolytiques héréditaires telles que l'elliptocytose héréditaire (HE) ou la sphérocytose héréditaire (HS), dans lesquelles des défauts qualitatifs et/ou quantitatifs des composants constituant ce réseau protéique ont été mis en évidence.

Le squelette dépendant de la spectrine a été visualisé la première fois par l'analyse en microscopie électronique du matériel membranaire extrait par un détergent non ionique, le Triton X100®. Il est organisé en un réseau polygonal formé de cinq à six filaments flexibles composés de tétramères de spectrine, reliés entre eux par de courts filaments d'actine (≈ 40 nm). Les tétramères de spectrine, qui représentent l'unité fonctionnelle, sont composés de deux chaînes α et deux chaînes β antiparallèles. Quand ils sont étirés, ces tétramères de spectrine mesurent ≈ 200 nm. L'interaction spectrine/actine est modulée par des protéines dites accessoires et/ou adaptatrices comme la protéine 4.1, la dématine, l'adducine, la tropomyosine, la tropomoduline, l'ankyrine, les protéines 4.2 et p55 dont les fonctions sont de stabiliser le complexe spectrine/actine, de maintenir la longueur des filaments d'actine, et de relier le squelette membranaire à la bicouche lipidique au travers d'interactions avec certaines protéines transmembranaires (figure 2.7). Les sites majeurs d'ancrage de la bicouche lipidique au

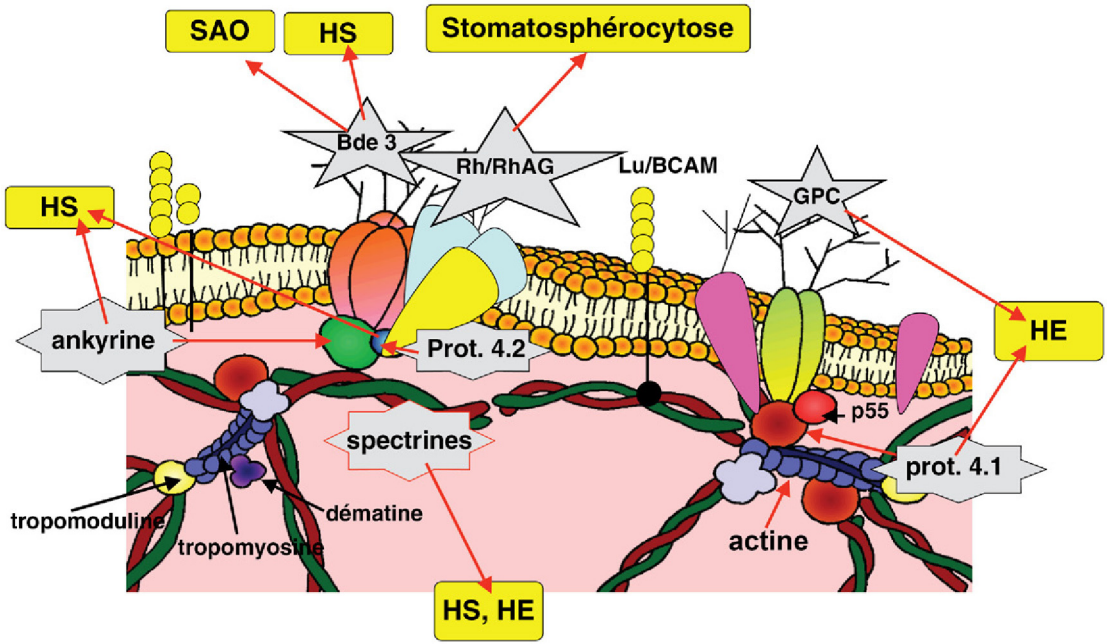


Figure 2.7. Squelette membranaire dépendant de la spectrine.

squelette membranaire impliquent des interactions directes entre la bande 3 et l'ankyrine, la glycophorine C et la protéine 4.1, le complexe Rh/RhAG et l'ankyrine. Étant donné le haut niveau d'expression de toutes ces protéines (de 100 000 à 1 000 000 de copies/globule rouge), leur altération conduit à des modifications de la structure, de la forme et des propriétés mécaniques du globule rouge le plus souvent associées à une anémie hémolytique. Ainsi l'elliptocytose héréditaire peut avoir comme origine moléculaire aussi bien des mutations des spectrines α et β, l'absence de la protéine 4.1 (variants 4.1^-) ou de la glycophorine C (variants Leach) ; la sphérocytose héréditaire peut avoir comme origine moléculaire aussi bien des mutations des spectrines α et β, de l'ankyrine, de la protéine 4.2 (variant 4.2^-) de la bande 3 ou du complexe Rh/RhAG (variants Rh_{null} qui présentent une forme particulière de sphérocytose, la stomatosphérocytose). Il en résulte que l'expression des antigènes de groupes sanguins Diego, Gerbich et Rh/RhAG est altérée non seulement dans des conditions génétiques où les gènes de ces groupes sanguins sont directement altérés, mais également lorsque des protéines du squelette membranaire sont mutées ou absentes.

Ces interactions entre le réseau du squelette dépendant de la spectrine et les protéines transmembranaires sont finement régulées par des modifications post-traductionnelles, essentiellement des phosphorylations, qui sont critiques pour la formation de microdomaines fonctionnels dans la membrane du globule rouge. En dehors des protéines majoritaires de la membrane, comme bande 3, Rh/RhAG et glycophorine C, les interactions avec le squelette membranaire sont également importantes pour réguler les propriétés fonctionnelles de protéines minoritaires ne jouant donc pas à l'évidence de rôle structural. Ainsi, l'interaction directe avec la spectrine régule négativement les propriétés d'adhérence des antigènes mineurs Lu/BCAM, et la diminution d'expression de la spectrine serait responsable de l'adhérence anormale des globules rouges à la laminine et des événements thrombotiques dans certaines sphérocytoses héréditaires.

Conclusion

La simplicité structurale associée à une complexité fonctionnelle, la très grande variété de mutants naturels et la disponibilité de nombreux outils d'études font du globule rouge et en particulier des antigènes de groupes sanguins des modèles de choix pour les analyses génétique, biochimique et fonctionnelle des membranes plasmiques de nombreux autres types cellulaires plus complexes.

3 Immunologie transfusionnelle

3.1 Bases immunologiques de la transfusion

Pour que les cellules ou les protéines transfusées gardent leur efficacité et soient bien tolérées, il est nécessaire que la compatibilité immunologique soit aussi parfaite que possible entre le produit issu du donneur et le receveur.

Ce chapitre comprend quatre volets :

- le polymorphisme et les systèmes de groupes sanguins ;
- l'immunogénétique des érythrocytes ;
- l'immunogénétique des leucocytes et des plaquettes ;
- l'immunogénétique des protéines appliquée à la transfusion.

Polymorphisme et systèmes de groupes sanguins

Polymorphisme

Les sciences de la vie ont longtemps retenu des dimensions morphologiques en définissant des types. Leur description était globale. Puis, peu à peu, cette description est devenue sélective, prenant en compte des éléments plus individualisables. L'avènement de la biologie a affirmé l'étape quantificatrice des différences et a permis l'extension de la notion de polymorphisme. Malgré nombre d'ambiguïtés, l'espèce peut être considérée comme l'unité de base du monde vivant. C'est l'espace dans lequel les individus qui la composent peuvent procréer et, en échangeant du matériel génétique, produire des individus nouveaux. Actuellement, près de 8 000 000 espèces animales ont été identifiées, et une espèce n'est pas homogène ; les individus qui la constituent peuvent différer les uns des autres par nombre de caractères et d'aspects : il s'agit du polymorphisme. Le fait que chacun d'entre nous est différent de tous les autres est le reflet de ce polymorphisme.

Groupes sanguins

Les « groupes sanguins » sont des ensembles d'éléments qui permettent à la fois de caractériser un être humain, de l'individualiser (c'est-à-dire de

© 2015 Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

le considérer comme un individu) et de le regrouper au sein d'ensembles « populationnels » en fonction de caractéristiques communes. On définit un groupe sanguin comme un ensemble d'antigènes allotypiques, génétiquement induits et déterminés, génétiquement indépendants les uns des autres, exprimés à la surface d'un ou de plusieurs types d'éléments figurés du sang : les globules rouges, les polynucléaires, les lymphocytes, les monocytes et les plaquettes. Actuellement, 35 systèmes de groupes sanguins liés au globule rouge et 342 antigènes érythrocytaires ont été identifiés. Le tableau 3.1 dresse la liste des 35 systèmes et leur localisation génétique.

Groupes sanguins du globule rouge (ou « groupes érythrocytaires »)

La définition des groupes sanguins est essentielle, car elle est la base de l'immunogénétique. Reprenons-en les termes :

- *ensemble d'antigènes*, traduisant la présence au sein d'une espèce, sur la membrane de certaines cellules, de structures biochimiques reconnues par des anticorps spécifiques ;
- *allotypiques* : l'adjectif caractérise une catégorie (N) particulière de ces structures, qui se présentent sous des formes variables n1, n2, n3, n4, etc. Ces caractères sont transmis selon les règles de la génétique mendélienne ;
- *génétiquement induits et déterminés*, c'est-à-dire que ces structures sont le résultat d'un codage au niveau du génome par un gène donné, situé en un endroit précis (locus) d'un chromosome donné ;
- *génétiquement indépendants*, au sens de la génétique formelle, c'est-à-dire que, lors de la transmission des caractères à la descendance, ces ensembles d'antigènes sont redistribués au hasard aux nouveaux individus. Ainsi, plus deux gènes sont situés loin l'un de l'autre sur un même chromosome, plus leur probabilité d'être de nouveau réunis est faible en raison de la survenue systématique des recombinaisons génétiques entre les deux chromosomes pendant la méiose. Il va de soi que des gènes situés sur des chromosomes différents sont, eux, toujours transmis de manière indépendante.

Il y a une véritable filiation entre antigènes, phénotypes, génotypes : c'est l'assemblage des antigènes qui constitue un phénotype dont l'essence est le génotype.

Ceci demande cependant à être redéfini à la lumière de travaux récents individualisant les unités génétiques fonctionnelles qui, *in fine*, donnent naissance à la protéine, c'est-à-dire à un marqueur, lequel peut être reconnu sur les membranes cellulaires de manière spécifique. Ainsi, l'indépendance qui reposait auparavant sur la distance entre deux gènes devient un concept plus fonctionnel, traduisant le fait que deux unités génétiques, même

Tableau 3.1. Classification des systèmes de groupes sanguins humains (ISBT 2014).

Système	Numéro	Symbole	Gène(s)	Localisation du gène
ABO	001	ABO	*ABO*	9q34.2
MNS	002	MNS	*GYPA, GYPB, GYPE*	4q31.21
P1PK	003	P1PK	*A4GALT*	22q13.2
Rh	004	RH	*RHD, RHCE*	1p36.11
Lutheran	005	LU	*LU*	19q13.32
Kell	006	KEL	*KEL*	7q34
Lewis	007	LE	*FUT3*	19p13.3
Duffy	008	FY	*DARC*	1q23.2
Kidd	009	JK	*SLC14A1*	18q12.3
Diego	010	DI	*SLC4A1*	17q21.31
Yt	011	YT	*ACHE*	7q22.1
Xg	012	XG	*XG (MIC2)*	Xp22.33
Scianna	013	SC	*ERMAP*	1p34.2
Dombrock	014	DO	*ART4*	12p12.3
Colton	015	CO	*AQP1*	7p14.3
Landsteiner-Wiener	016	LW	*ICAM4*	19p13.2
Chido/Rodgers	017	CH/RG	*C4A, C4B*	6p21.3
H	018	H	*FUT1*	19q13.33
Kx	019	XK	*XK*	Xp21.1
Gerbich	020	GE	*GYPC*	2q14.3
Cromer	021	CROM	*CD55*	1q32.2
Knops	022	KN	*CR1*	1q32.2
Indian	023	IN	CD44	11p13
Ok	024	OK	*BSG*	19p13.3
Raph	025	RAPH	*CD151*	11p15.5
John Milten Hagen	026	JMH	*SEMA7A*	15q24.1
I	027	I	*GCNT2*	6p24.2
Globoside	028	P	*B3GALT3*	3q26.1
Gill	029	GIL	*AQP3*	9p13.3
Rh-*associated glycoprotein*	030	RHAG	*RHAG*	6p21-q*ter*
Forssman	031	FORS	*GBGT1*	9q34.2
Jr	032	JR	*ABCG2*	4q22
Langereis	033	LAN	*ABCB6*	2q36
Vel	034	VEL	*SMIM1*	1p36
CD59	035	CD59	*CD59*	11p13

proches, peuvent conduire à la production de deux protéines différentes sans interrelation entre elles.

Système ABO

Le système ABO est le plus anciennement connu des systèmes de groupes sanguins — il fut découvert en 1900 par Karl Landsteiner. Ce système offre quatre possibilités d'expression antigénique : A, B, AB, ou aucun antigène

(appelé O par convention). Chaque individu possède un de ces quatre groupes, et seulement un. En France métropolitaine :

- 45 % de la population est de groupe A ;
- 43 % de groupe O ;
- 9 % de groupe B ;
- 3 % de groupe AB.

Cette répartition varie sensiblement selon les populations étudiées. Par exemple, le groupe O est plus fréquent chez les Indiens d'Amérique centrale et australe, et le long des côtes nord-ouest de l'Europe, en particulier en Écosse, en Irlande et au pays de Galles.

Le *groupe* est en fait le reflet de l'expression des gènes, ce qui s'appelle également *phénotype*. Le phénotype ABO d'un individu naît de la conjonction de deux gènes *allèles* (les allèles sont des formes différentes d'un même gène). Ainsi, pour les gènes du locus ABO, trois allèles sont identifiés : *A*, *B* ou *O*. Les allèles *A* et *B* sont dits *codominants* car ils peuvent s'exprimer simultanément si l'un et l'autre sont présents. L'allèle *O* correspond à l'absence d'antigènes A ou B.

L'être humain, organisme diploïde, dispose de deux allèles par locus, selon les possibilités indiquées par le tableau 3.2.

Ainsi, pour un même phénotype, par exemple A, deux génotypes (c'est-à-dire deux formules génétiques) sont possibles : soit *A*/*A*, soit *A*/*O* ; quel que soit le génotype, le phénotype est identique : le sujet est de groupe A.

Le système ABO constitue une barrière naturelle essentielle à la transfusion sanguine, en ce sens qu'il est indispensable de respecter les compatibilités entre individus. En effet, chaque sujet possède de manière constante, dans son sérum, les anticorps dirigés contre l'antigène qu'il ne possède pas sur les globules rouges :

- un sujet de groupe A possède des anticorps anti-B ;
- un sujet de groupe B possède des anticorps anti-A ;
- un sujet AB ne possède aucun de ces anticorps ;
- un sujet de groupe O présente à la fois des anticorps anti-A et anti-B.

Tableau 3.2. Phénotypes, génotypes et fréquence dans le système de groupe ABO.

Phénotype (groupe)	Génotype (exprimé par deux gènes allèles)	Fréquence (en France)
A	*A/A ou A/O*	45 %
B	*B/B ou B/O*	9 %
AB	*A/B*	3 %
O	*O/O*	43 %

Sur le plan transfusionnel, un sujet de groupe A peut recevoir du sang A ou du sang O, mais ne pourra pas tolérer du sang B ou du sang AB, car les anticorps anti-B de cet individu se fixeraient sur les hématies transfusées, entraînant leur destruction.

Ubiquité des groupes sanguins

Les antigènes du groupe ABO s'expriment sur le globule rouge, mais pas seulement sur cette cellule. Ils sont présents sur de nombreuses cellules de l'organisme comme les cellules biliaires, les cellules acineuses pancréatiques, les cellules rénales, les cellules épidermiques. C'est un système *ubiquitaire*.

Pourquoi cette expression antigénique est-elle large et que signifie-t-elle ? Nul ne le sait et pourtant les conséquences peuvent être fondamentales, notamment pour le succès des transplantations et des greffes. Transplanter un rein d'un sujet de groupe B à un insuffisant rénal de groupe A, c'est l'exposer au rejet du greffon : les anticorps anti-B du receveur viendront se fixer sur les antigènes B du greffon, plus particulièrement sur les vaisseaux, générant un conflit immunologique qui peut conduire au rejet aigu de la greffe.

L'ubiquité des antigènes du système ABO constitue donc une barrière à la transplantation de certains organes.

Système RH (Rh)

Le système RH (anciennement « Rhésus ») représente une belle illustration du polymorphisme. Il est constitué de deux gènes : l'un, *RHD*, n'est fonctionnel que chez les individus RH positifs, l'autre, *RHCE*, est toujours fonctionnel (sauf cas exceptionnel) chez tous les êtres humains — la différence entre le phénotype RHD positif et RHD négatif provient chez les Caucasiens de la délétion complète du gène *RHD*, à l'état homozygote. De plus, le gène *RHCE* est associé aux spécificités antigéniques C/c et E/e, qui varient selon les individus.

Il est d'usage de distinguer 18 phénotypes (ou groupes) différents, dont le plus fréquent, dénommé R_1r, est exprimé chez 34,5 % des Européens, et le plus rare a une fréquence inférieure à 0,001 %. Près de 85 % des Caucasiens sont de phénotype RHD positif, 15 % sont dits RHD négatif, selon qu'ils possèdent ou ne possèdent pas un gène *RHD* fonctionnel.

Ce polymorphisme diffère de surcroît selon les populations. Ainsi, au Japon, la distribution des phénotypes RH est totalement différente : 0,1 % des sujets sont de phénotype RHD négatif (soit une fréquence 150 fois inférieure à celle des Caucasiens), tandis que 99,9 % sont de phénotype RHD positif.

Exemple de polymorphisme, le système RH est également un témoin de l'évolution anthropologique des espèces et, plus particulièrement, une

image des relations évolutives entre l'homme et les primates non hominiens (chimpanzé, gorille, orang-outan).

Autres systèmes

À côté de ABO et de RH, systèmes essentiels pour la transfusion, il existe de nombreux autres systèmes tels que :

- *le système KEL* (*Kell*) : 9 % des Français métropolitains sont de phénotype Kell positif (cette fréquence n'est que de 4 % chez les sujets d'origine africaine/antillaise) ;
- *le système FY* (*Duffy*), dont l'expression est assez variable selon les populations : sauf exception rarissime, le phénotype Fy(a–b–) n'est rencontré que chez les sujets d'origine africaine/antillaise et chez certaines populations malaisiennes ;
- *le système JK* (*Kidd*) : il est important en transfusion ; en revanche, la fréquence des différents antigènes varie peu selon les populations ;
- *le système P1PK* : 80 % des Français métropolitains sont de phénotype P_1 et 20 % sont de phénotype P_2 ;
- *le système MNS* : il constitue l'expression du polymorphisme de certaines glycoprotéines de la membrane du globule rouge, les glycophorines A et B ;
- *le système DI* (*Diego*) : de grand intérêt anthropologique, il atteste de l'origine mongoloïde des Amérindiens ;
- *le système XG* (*Xg*) : son gène est situé sur le chromosome X ;
- et de nombreux autres systèmes : le système LE (Lewis), le système CO (Colton), le système LU (Lutheran), le système DO (Dombrock), le système SC (Scianna), le système YT (CartWright)…

Au total, 35 systèmes sont connus à ce jour.

Chaque système est un ensemble de variations qui s'expriment indépendamment chez chaque individu. Ainsi, chacun exprime sa propre série d'antigènes qu'il a héritée de ses parents, comme celle de Monsieur X qui se présente comme suit (tableau 3.3).

Telle se présente une carte d'identité biologique fondée sur les seuls groupes sanguins érythrocytaires. Une nomenclature purement alphanumérique mise en place par la Société internationale de transfusion sanguine est actuellement de plus en plus utilisée.

Mis à part son rôle en médecine transfusionnelle, la signification profonde du polymorphisme de certaines structures de membrane des érythrocytes humains est encore peu connue. Le fait que la distribution géographique de certains de ces polymorphismes soit corrélée avec les aires de répartition de certains pathogènes infectieux (un des agents du paludisme et le système Duffy) donne à penser que la pression de sélection a dû jouer un rôle important dans leur constitution et leur maintien. À titre d'exemple, l'antigène P (GLOB1) constitue le récepteur du parvovirus B19.

Tableau 3.3. Exemples de phénotypes érythrocytaires.

Systèmes érythrocytaires	Antigènes présents chez M. X	Phénotype de M. X*	Appellation alpha-numérique
ABO	A	A	ABO:1,–2,3
Rh	D, C, c, e	D+ C+ E– c+ e+ (R_1r)	RH:1,2,–3,4,5
Kell	K, k	K+ k+	KEL:1,2
Duffy	Fy^b	Fy(a–b+)	FY:–1,2
Kidd	Jk^a	Jk(a+b–)	JK:1,–2
P1PK	P_1	P_1	P1PK:1
Lewis	Le^b	Le(a–b+)	LE:–1,2
MNS	M, N, s	M+ N+ S– s+	MNS:1,2,–3,4
Lutheran	Lu^b	Lu(a–b+)	LU:–1,2
Xg	Xg^a	Xg(a+)	XG:1
Diego	Di^b	Di(a–b+)	DI:–1,2
Colton	Co^a	Co(a+b–)	CO:1,–2
Dombrock	Do^a	Do(a+b–)	DO:1,–2
Scianna	Sc1	Sc:1,–2	SC:1,–2
Cartwright	Yt^a	Yt(a+b–)	YT:1,–2

* Dénominations usuelles.

On sait désormais que le groupe RH correspond à un ensemble moléculaire impliqué dans des phénomènes de transport à travers la membrane du globule rouge et que le groupe FY est situé sur le récepteur d'une hormone intercellulaire, l'interleukine 8.

Systèmes de groupes sanguins propres aux polynucléaires et aux plaquettes

La découverte de ces systèmes est due aux travaux sur les incompatibilités fœtomaternelles et transfusionnelles.

Cinq systèmes particuliers aux polynucléaires ont été identifiés : les systèmes NA, NB, NC, ND et NE. Depuis quelques années, l'étude de ces systèmes devient techniquement possible.

Parmi les systèmes propres aux plaquettes, le système HPA-1 (anciennement PL^A) est le mieux connu : 1,5 % des Caucasiens sont dépourvus de l'antigène HPA-1a.

Ainsi, l'analyse de populations cellulaires sanguines telles que les globules rouges, les lymphocytes, les polynucléaires et les plaquettes, permet déjà de mettre en évidence un polymorphisme important. À ce stade, l'individualité se calcule en centaines de millions : moins d'un individu unique pour plusieurs centaines de millions.

Tableau 3.4. Classification des polymorphismes des antigènes des polynucléaires neutrophiles.

Antigène		Allèle	Nomenclature	Fréquence antigénique	Localisation
Neutrophile-spécifique	NA NA SH NB	*NA1* *NA2* *SH* *NB1*	HNA-1a HNA-1b HNA-1c HNA-2a	46 % 88 % 5 % 97 %	FcγRIIIb (CD16) FcγRIIIb (CD16) FcγRIIIb (CD16) CD177
Non neutrophile-spécifique	5 MART OND	*5b* *MART*[a] *OND*[a]	HNA-3a HNA-4a HNA-5a	97 % 99 % 99 %	70-95 kD GP CD11b CD11a

Tableau 3.5. Classification des polymorphismes des antigènes des plaquettes.

Système	Antigènes	Fréquence phénotypique	Mutation
Polymorphismes de la glycoprotéine IIIa			
HPA-1	HPA-1a, (PI^{A1}, Zw^a)	98 %	
	HPA-1b, (PI^{A2}, Zw^b)	27 %	Leu33Pro
HPA-4	HPA-4a (Pen^a, Yuk^b)	99,9 %	
	HPA-4b (Penb, Yuk^a)	< 1 %	Arg143Gln
HPA-6	HPA-6bw (Ca^a, Tu^a)	< 1 %	Arg489Gln
HPA-7	HPA-7bw (Mo)	< 1 %	Pro407Ala
HPA-8	HPA-8bw (Sr^a)	< 1 %	Arg636Cys
HPA-10	HPA-10bw (La^a)	< 1 %	Arg62Gln
HPA-11	HPA-11bw (Gro^a)	< 1 %	Arg633His
HPA-14	HPA-14bw (Oe^a)	< 1 %	Lys611Del
HPA-16	HPA-16bw (Duv^a)	< 1 %	Ile140Thr
Polymorphismes de la glycoprotéine IIb			
HPA-3	HPA-3a (Bak^a, Lek^a)	85 %	
	HPA-3b (Bak^b, Lek^b)	63 %	Ile843Ser
HPA-9	HPA-9bw (Max^a)	0,6 %	Val837Met

Les classifications des polymorphismes des polynucléaires et des plaquettes sont présentées dans les tableaux 3.4 et 3.5.

Un système à part : le complexe majeur d'histocompatibilité (CMH)

Le CMH constitue le système immunogénétique le plus ubiquitaire : son expression est retrouvée dans la majorité des cellules de l'organisme. Il est cependant globalement absent sur la membrane du globule rouge.

Complexe majeur d'histocompatibilité (CMH)

La découverte du système HLA (*Human Leucocyte Antigen*) est une des avancées biologiques majeures du XXe siècle. Le rôle du système HLA est multiple et essentiel dans les domaines de l'immunologie, de la génétique, de la prédisposition aux maladies… Le segment chromosomique portant le locus HLA (bras court du chromosome 6) ne représente pourtant que moins d'un millième de l'ADN humain total.

Dans le cadre de l'étude du polymorphisme, le système HLA est schématiquement composé de deux classes de gènes et de molécules : classe I et classe II.

La classe I se compose de trois séries principales de gènes : HLA-A, HLA-B et HLA-C. Pour chacune, un nombre impressionnant d'allèles, c'est-à-dire de gènes de formes différentes, a été identifié : plus de 50 pour HLA-A, plus de 100 pour HLA-B, plus de 25 pour HLA-C. Sur un plan théorique, une telle variété aboutit à plus de 105 possibilités par haplotype ou chromosome, et à plus d'un milliard de possibilités par individu, car nous possédons chacun deux haplotypes.

La classe II est composée de trois séries principales dénommées HLA-DR, HLA-DQ, HLA-DP, et de plusieurs séries moins importantes dans le domaine de la transfusion et de la greffe. Pour ces trois séries, de très nombreux allèles ont été également identifiés.

Si on ne considère que les marqueurs de classe I et de classe II, à l'exclusion des marqueurs de classe III, le calcul théorique conduit à l'identification de plusieurs centaines de millions de possibilités (ou combinaisons) pour un seul chromosome. C'est le rôle même des molécules supportant les spécificités HLA qui semble à l'origine d'une telle diversité. Celles-ci ont en effet pour objet de présenter les antigènes étrangers au système immunitaire en vue de leur élimination ultérieure.

L'homme, organisme diploïde, possède deux chromosomes différents provenant chacun d'un de ses parents. Cette grande diversité explique aussi pourquoi il est très difficile de trouver deux sujets HLA identiques non apparentés.

Immunogénétique des érythrocytes appliquée à la transfusion

Les groupes sanguins représentent la base immunologique fondamentale de la transfusion

Le principe de la sécurité des transfusions est d'éviter la rencontre d'un antigène avec son anticorps spécifique. Une telle éventualité représente une « incompatibilité ». Si celle-ci se produisait, l'anticorps se fixerait sur son antigène situé sur la membrane du globule rouge, lequel serait alors voué soit à une destruction rapide, sinon immédiate, dans les vaisseaux, soit à une phagocytose par les cellules mononucléées. Ce serait un accident hémolytique. Dans l'immense majorité des cas, ce sont les anticorps du receveur qui risquent d'entrer en conflit avec les antigènes apportés par les

hématies du ou des donneurs. Les hématies sensibilisées peuvent alors être détruites soit dans la circulation sanguine (hémolyse intravasculaire) soit, plus souvent, au niveau des cellules macrophagiques (hémolyse extravasculaire ou intratissulaire). Les anticorps en cause sont divers :

- anticorps « naturels » réguliers du système ABO ;
- anticorps « naturels » irréguliers d'autres systèmes de groupe (anti-Lewis en particulier) ;
- anticorps « immuns » provenant d'une allo-immunisation à divers antigènes introduits soit par les transfusions antérieures, soit par voie transplacentaire lors des grossesses, tels les anticorps anti-D, anti-c, anti-K, anti-Fy^a, anti-Jk^a, etc.

Anticorps naturels

Dans le système ABO, c'est l'anticorps du receveur qui doit être pris en compte. En règle générale, il est préférable de transfuser en « isogroupe » : A pour A, O pour O, etc. (phéno-identité). À défaut, on utilisera des globules rouges « compatibles » : sang O pour receveur A, B ou AB, sang A pour receveurs AB, etc. (phéno-compatiblité). Dans les cas où, à la suite d'une erreur, le schéma classique des compatibilités ABO n'est pas respecté lors de la transfusion, les anticorps naturels anti-A et anti-B du receveur sont à l'origine de la destruction des hématies transfusées (figure 3.1).

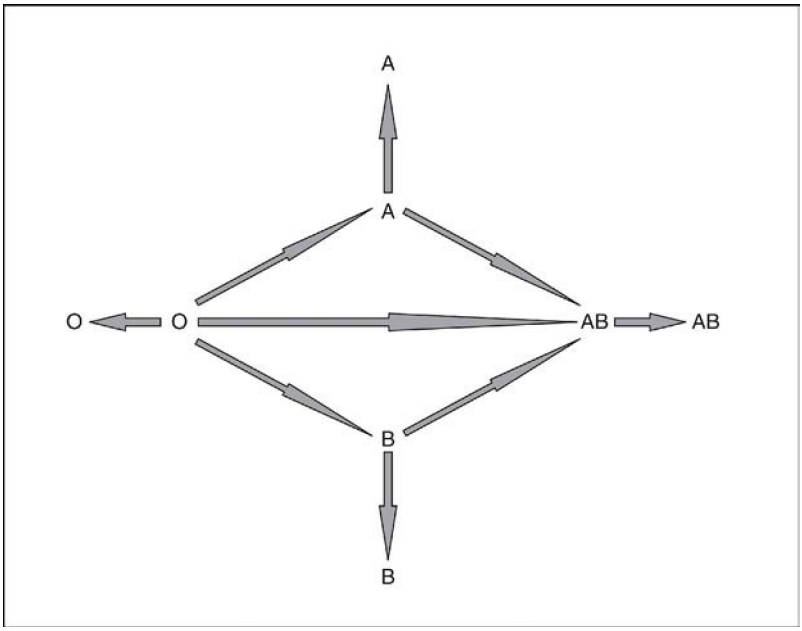


Figure 3.1. Schéma des règles de compatibilité ABO.

Dans tous ces cas, le ou les anticorps du receveur, en se fixant sur les hématies transfusées portant l'antigène correspondant, peuvent provoquer une hémolyse intravasculaire brutale, avec déversement dans la circulation du contenu des globules rouges. Cet accident hémolytique peut se compliquer d'une atteinte rénale et d'une activation des processus de la coagulation.

En règle générale, les anticorps ABO du donneur sont sans danger pour les hématies du receveur. En effet, ils sont rapidement dilués dans la circulation du receveur et s'absorbent sur les antigènes tissulaires A et B de la paroi vasculaire. Néanmoins, il n'en est pas toujours ainsi, en particulier lors des transfusions massives ou d'anticorps anti-A ou anti-B de classe IgG et de haut titre.

Rôle des anticorps naturels en dehors du système ABO

Les anticorps du système Lewis, dans la majorité des cas, ne sont pas réellement dangereux, car il s'agit d'anticorps de titre faible et plutôt actifs à basse température. Cependant, certains anticorps (notamment anti-Le^a) peuvent être dangereux lorsqu'ils sont actifs à 37°C, hémolysants et de titre élevé (en particulier chez le malade drépanocytaire).

Les autres anticorps naturels des systèmes P1PK, MNS, LU ne sont généralement pas dangereux. L'anti-P1 est un anticorps naturel irrégulier fréquent. Il est pratiquement toujours inactif à 37°C, et l'intérêt de sélectionner du sang de phénotype P_2 n'est justifiable que dans des situations particulières, comme la réfrigération artificielle du receveur, en particulier pour des interventions cardiaques. Les anticorps naturels des autres systèmes sont rares, tels que les anticorps anti-M, anti-N, anti-Lu^a. Ils sont habituellement sans danger car presque toujours inactifs à 37°C.

Il ne sera pas détaillé ici la problématique des phénotypes « publics négatifs », qui correspondent à des sujets exceptionnels dépourvus d'un « antigène public » — c'est-à-dire présent dans la très grande majorité des individus, avec une fréquence supérieure à 99,6 %. Pour toute information concernant de tels sujets (qui sont plus de 700 000 dans la population française), on se référera au site internet de l'INTS (www.ints.fr).

Allo-immunisation

L'étude de l'allo-immunisation par grossesse, qui peut être assimilée dans son mécanisme à une allo-immunisation par transfusion, a montré que l'antigène RHD est le plus immunogène des antigènes de groupes sanguins. Aussi est-ce une règle impérative de ne pas transfuser un receveur RHD négatif avec du sang RHD positif. D'après les résultats de la littérature, environ 20 à 40 % des sujets RHD négatifs produisent un anticorps anti-D après la transfusion de sang RHD positif.

L'analyse de la spécificité des alloanticorps de groupes sanguins pouvant apparaître chez les polytransfusés fournit un modèle pour l'étude du caractère immunogène des autres antigènes des divers systèmes, y compris ceux du système Rh (en dehors de l'antigène D). Les antigènes de groupes sanguins les plus immunogènes, en dehors de RHD, sont dans l'ordre : K, E, c, Fy^a, Jk^a (mais les antigènes HLA ont aussi une immunogénicité remarquable).

L'allo-immunisation présente les caractéristiques suivantes :

- *l'allo-immunisation est souvent globale, concernant aussi bien le système HLA que les groupes érythrocytaires*. Il s'agit d'anticorps immuns : leur fréquence croît proportionnellement au nombre d'unités transfusées, mais les premiers à apparaître (et les plus fréquents) sont les anticorps anti-HLA. On observe alors, chez les receveurs qui ont déjà développé un anticorps anti-HLA, cinq fois plus d'anticorps dirigés contre les groupes sanguins que chez ceux qui n'ont pas développé d'anticorps anti-HLA ;
- *les anticorps apparaissent et disparaissent* : *leur concentration varie avec le temps, au rythme des stimulations*. Chez les malades soumis à des séries de transfusions, l'interprétation des recherches d'anticorps doit tenir compte de la chronologie des examens par rapport aux transfusions. Les anticorps immuns sont décelables en effet avec un maximum de probabilité du 7e au 15e jour après la transfusion ou la série de transfusions. Cette détection est réalisée au laboratoire par une série de tests qui porte le nom générique de « recherche d'anticorps antiérythrocytaires » (RAI). La pratique d'une RAI est obligatoire avant toute transfusion. D'un point de vue réglementaire, la validité de la RAI est encore de 72 heures (soit trois jours) pour pratiquer une nouvelle transfusion. Les résultats de cet examen doivent être joints à l'ordonnance de prescription de concentrés érythrocytaires ;
- *l'allo-immunisation peut s'étendre de manière explosive, aboutissant alors à une impasse transfusionnelle*. Ce problème concerne les polytransfusés qui se sensibilisent progressivement à des antigènes de plus en plus nombreux. Au fur et à mesure que ces anticorps apparaissent, et dans la mesure où ils correspondent à des antigènes de fréquence assez élevée, le pourcentage de donneurs compatibles devient de plus en plus faible. On peut ainsi aboutir à une véritable « impasse transfusionnelle ».
- *l'allo-immunisation est imprévisible* : il n'est pas possible de prévoir qui s'immunisera et qui ne s'immunisera pas ;
- *l'allo-immunisation est irréversible* : cette caractéristique est en lien direct avec la mémoire du système immunitaire.

Il existe trois catégories d'anticorps antiérythrocytaires selon la prévalence de leur antigène cible :

- anticorps dirigés contre un antigène de faible fréquence (< 1 % dans la population générale) : on parle également d'anticorps « anti-privé » ;

- anticorps dirigés contre un antigène de fréquence équilibrée (1 à 99 % dans la population générale) : cela représente la très grande majorité des anticorps ;
- anticorps dirigés contre un antigène de fréquence élevée (> 99 % dans la population générale) : on parle également d'anticorps « anti-public ».

Quant aux receveurs de phénotypes rares, ils représentent une situation particulièrement redoutable. Les sujets manquant d'un antigène public, par exemple Rh_{null}, D– –, K_o, Lu(a–b–) de type récessif, Jk(a–b–), Kp(b–), Yt(a–), peuvent s'immuniser dès la ou les premières transfusions qui ne peuvent qu'être incompatibles : toute transfusion ultérieure devient dès lors très compliquée.

Là encore, il est nécessaire de pouvoir disposer d'une réserve de globules rouges de phénotypes rares identiques, provenant soit d'une réserve congelée, soit de la fratrie du malade, soit du malade lui-même (prélevés antérieurement à la maladie ou à l'accident nécessitant la transfusion). Cette situation constitue l'indication type de la transfusion d'unités de sang congelé. L'INTS a en charge la gestion immunologique, scientifique et médicale de ces problèmes : plus de 12 500 personnes sont actuellement identifiées en France comme présentant un phénotype « public négatif ». La Banque nationale de sang de phénotype rare (BNSPR) est installée, pour le stockage, au sein de l'EFS Ile-de-France (hôpital Henri-Mondor).

Immunogénétique des leucocytes et des plaquettes appliquée à la transfusion

Le développement des transfusions de plaquettes a créé une situation immunologique difficile. En effet, comme cela a été montré précédemment, les antigènes les plus immunogènes de notre espèce sont les antigènes HLA de classe I, dont les plaquettes sont abondamment pourvues.

Risque d'allo-immunisation anti-HLA

Le prescripteur se trouve confronté à deux problèmes délicats :
- limiter au maximum, sinon retarder ou prévenir, l'allo-immunisation anti-HLA ;
- si celle-ci apparaît, recourir à des unités d'aphérèse qui permettraient de rendre plus efficaces les transfusions.

La transfusion de concentrés érythrocytaires a provoqué l'apparition d'anticorps anti-HLA dans 20 % des cas après la transfusion de dix unités, et dans 50 % des cas après trente unités. Il n'est pas prouvé scientifiquement que le recours à des concentrés plaquettaires standard provenant de donneurs multiples augmente considérablement le risque d'immunisation, même chez des sujets soumis à des traitements chimiothérapiques entraînant une dépression immunitaire.

Les leucocytes (particulièrement les granulocytes) s'avèrent encore plus immunogènes que les plaquettes. Les uns et les autres, plaquettes et granulocytes, sont présents dans les concentrés érythrocytaires standards et dans le sang total. Cet état de fait a conduit les autorités sanitaires françaises, suivies par d'autres pays, à recourir à l'élimination systématique des leucocytes de tous les produits sanguins labiles : en France, la déleucocytation systématique des produits cellulaires et la filtration du plasma sont obligatoires, respectivement depuis 1998 et 2001.

Ces anticorps anti-HLA, qui sont mis en évidence au mieux par la technique de lymphocytotoxicité, sont en général puissants et polyspécifiques chez les polytransfusés, en raison du polymorphisme étendu du système HLA.

Immunisation contre les antigènes granulocytaires spécifiques non HLA

Un certain nombre de réactions pyrogènes après transfusion de concentrés érythrocytaires peuvent être observées chez des receveurs ne possédant pas d'anticorps lymphocytotoxiques anti-HLA. De même, après des injections répétées de concentrés leucocytaires unitaires provenant de donneurs compatibles dans le système HLA, de telles réactions peuvent apparaître et l'on constate simultanément l'inefficacité des transfusions. Ces phénomènes suggèrent donc l'existence d'anticorps développés contre des antigènes n'appartenant pas au système HLA.

Ces anticorps « non anti-HLA » dirigés contre les granulocytes peuvent être à l'origine de l'inefficacité des transfusions de plaquettes HLA-compatibles. En revanche, l'élimination de 96 % des leucocytes de ces concentrés les rend parfaitement efficaces et bien tolérés cliniquement.

Immunisation contre les antigènes plaquettaires spécifiques

Dans le sang de femmes ayant eu plusieurs grossesses et éventuellement chez des sujets ayant déjà reçu des transfusions, on peut observer des anticorps actifs vis-à-vis d'antigènes spécifiques des plaquettes. Ainsi, divers systèmes de groupes plaquettaires ont été décrits, où le plus important, l'antigène HPA-1a (anciennement Pl^{A1}, présent chez 98 % de la population française) est relativement immunogène. La présence de tels anticorps pourrait expliquer l'inefficacité des concentrés plaquettaires. De plus, l'immunisation anti-HPA-1a peut être à l'origine du purpura thrombopénique post-transfusionnel.

Il existe en outre un analogue de l'incompatibilité fœtomaternelle dans les systèmes plaquettaires, qui réalise un purpura thrombopénique alloimmun postnatal, dont les complications peuvent être redoutables.

Le rôle de la compatibilité ABO reste un problème ouvert

Les antigènes A et B sont à considérer également comme des antigènes d'histocompatibilité puisqu'ils sont présents à la surface des plaquettes et des granulocytes. Il y a donc lieu, en principe, de respecter les compatibilités ABO entre le sérum du receveur et les concentrés injectés. Il semble cependant que les anticorps anti-A et/ou anti-B, à l'exception des anticorps immuns, n'ont qu'une action limitée sur les plaquettes ou les granulocytes. On observe néanmoins une moins bonne efficacité des concentrés plaquettaires HLA-compatibles lorsqu'il existe une incompatibilité ABO ; cependant, certains estiment que la différence n'est pas suffisante pour, le cas échéant, ne pas pouvoir passer outre cette dernière incompatibilité…

Il convient enfin de souligner que la contamination des concentrés plaquettaires ou leucocytaires par des érythrocytes peut être aussi à l'origine de l'apparition ou, surtout, de la réactivation d'anticorps antiérythrocytaires anti-Rh, anti-Kell, etc.

Polymorphisme des protéines appliqué à la transfusion

L'existence de variations allotypiques des protéines plasmatiques et l'immunogénicité de certaines d'entre elles, quoique limitée, expliquent l'apparition, chez des sujets polytransfusés, d'une allo-immunisation à divers constituants protéiques du plasma. Néanmoins, ce type d'immunisation est relativement rare et les conséquences cliniques sont le plus souvent très limitées, à quelques importantes exceptions près.

Immunisation contre des immunoglobulines

Parmi les protéines sériques, ce sont essentiellement les immunoglobulines qui ont pu donner lieu à des phénomènes d'immunisation transfusionnelle, encore que ceux-ci restent relativement rares et passent le plus souvent inaperçus.

Allo-immunisation anti-IgG : un événement rare et sans conséquence clinique

La recherche systématique des anticorps anti-Gm, anti-Km (définissant des allotypes) chez les polytransfusés a montré une fréquence de résultats positifs très voisine de celle constatée chez les sujets non transfusés — en dehors du cas des thalassémiques chez lesquels ces anticorps seraient plus fréquents, avec une certaine corrélation avec le nombre des transfusions reçues. Il n'a pas été constaté de relation entre ces anticorps ou leur spécificité et l'existence de réactions cliniques après transfusion de sang ou de plasma.

Allo-immunisation anti-IgA et risque de choc anaphylactique

Les anticorps anti-IgA peuvent correspondre à deux mécanismes d'immunisation susceptibles de provoquer un choc anaphylactique :

- dans la majorité des cas, il s'agit d'anticorps anti-IgA survenant chez des sujets ayant un déficit isolé en IgA. Un tel déficit n'est pas exceptionnel : sa fréquence est estimée à un sujet sur 700. Chez ces sujets, des anticorps peuvent être mis en évidence, même en dehors de tout antécédent transfusionnel. Il s'agit d'anticorps actifs sur les IgA, quelle que soit leur variété allotypique ;
- beaucoup plus rares sont les anticorps anti-IgA dirigés contre l'allotype A2m. Les sujets chez lesquels on les identifie sont toujours des polytransfusés possédant un taux normal d'IgA. Il s'agit, dans ces cas, d'une véritable allo-immunisation, comme dans les cas d'immunisation transfusionnelle contre des antigènes de surface érythrocytaires ou leuco-plaquettaires.

Immunisation contre des facteurs plasmatiques de coagulation

L'apparition de l'anticorps anti-facteur VIII est une complication redoutable du traitement transfusionnel des hémophiles A. L'apparition d'inhibiteurs de la coagulation ou « anticoagulants circulants » (ACC) chez des malades ayant un déficit constitutionnel en un facteur de coagulation pose un problème thérapeutique difficile. En effet, ces ACC sont des anticorps dirigés contre la protéine absente chez le malade et apportée par les traitements transfusionnels répétés.

Anticoagulants circulants

Certains sont rares : anti-facteur I (fibrinogène), anti-facteur V, anti-facteur Willebrand…

Les anticorps anti-facteur VIII sont le plus souvent observés et posent les problèmes thérapeutiques les plus graves. Ils sont de nature IgG (souvent des IgG4 et des IgG3). Ils agissent en inhibant de façon progressive et irréversible l'activité coagulante du facteur VIII. Il existe en général une corrélation entre la fréquence et l'intensité de l'ACC, et les apports transfusionnels en facteur VIII, qu'il soit d'origine plasmatique ou recombinante. Tous ces caractères permettent de le considérer comme résultant d'une immunisation transfusionnelle vis-à-vis du facteur VIII normal. Néanmoins, cette immunisation n'apparaît que chez 5 à 10 % des hémophiles A majeurs et varie en intensité suivant les individus, certains hémophiles ne s'immunisant que faiblement quel que soit le traitement, alors que, chez d'autres, tout nouvel apport antigénique provoque la réactivation d'un inhibiteur puissant. L'origine recombinante du facteur VIII induit une plus grande fréquence d'immunisation et d'anticorps neutralisants.

L'apparition d'un anticorps anti-facteur VIII chez un hémophile constitue une complication redoutable, car cet anticorps est suffisamment puissant pour inhiber le facteur VIII injecté chez le malade sous forme de fractions anti-hémophiliques et supprimer ainsi, plus ou moins complètement, toute possibilité d'hémostase.

3.2 Auto-immunisation et allo-immunisation antiérythrocytaire

Le système immunitaire d'un organisme vivant est un ensemble complexe et coordonné d'éléments de reconnaissance et de défense (organes, cellules, molécules) capables de discriminer le « soi » du « non-soi ». Les structures reconnues comme du « non-soi » sont vouées à un processus de destruction et d'élimination, telles que les agents pathogènes (bactéries, virus, parasites). Les anticorps produits par les lymphocytes B jouent un rôle majeur dans l'immunité spécifique. Il existe trois grands types d'immunisations capables d'induire la synthèse d'anticorps :

- *l'hétéro-immunisation*, qui correspond à la formation d'un anticorps par un individu d'une espèce donnée, à la suite d'une stimulation antigénique issue d'un individu d'une autre espèce : on parle alors d'hétéroanticorps ;
- *l'auto-immunisation*, qui correspond à la formation d'un anticorps dirigé contre un antigène du soi : on parle alors d'autoanticorps ;
- *l'allo-immunisation*, qui correspond à la formation d'un anticorps par un individu d'une espèce donnée, à la suite d'une stimulation antigénique issue d'un autre individu de la même espèce (*allo* pour « autre » en grec) : on parle alors d'alloanticorps.

L'immunisation peut toucher les différents types de cellules sanguines, globules rouges, leucocytes et plaquettes. Seuls les phénomènes d'auto-immunisation et d'allo-immunisation antiérythrocytaire sont traités dans cette section.

Auto-immunisation antiérythrocytaire

Maladies auto-immunes

La prévalence des maladies auto-immunes est d'environ 6 % dans la population générale. Ces maladies sont la conséquence d'un dysfonctionnement des mécanismes de tolérance immunitaire vis-à-vis des antigènes du « soi ». Elles sont réputées de type multifactoriel et impliquent tout particulièrement des éléments d'ordre immunologique, génétique et environnemental. Elles se traduisent par des affections touchant, spécifiquement ou non, des

organes, des tissus, des cellules ou des composants intracellulaires, liées à une réaction immune dirigée contre des autoantigènes. Il existe de très nombreuses maladies auto-immunes, dont une catégorie affecte le globule rouge : les anémies hémolytiques auto-immunes (AHAI).

Anémies hémolytiques auto-immunes

L'AHAI est une pathologie hématologique peu fréquente, dont l'incidence est d'environ un cas pour 25 000 habitants par an. Les AHAI se caractérisent par l'existence d'autoanticorps capables de reconnaître les propres antigènes érythrocytaires du patient, entraînant la destruction accélérée des hématies autologues. L'anémie apparaît lorsque le taux de destruction des hématies dépasse la capacité régénérative de la moelle osseuse. Les AHAI montrent de multiples présentations cliniques et biologiques, ce qui a conduit à la mise en place d'une classification fondée sur les propriétés de l'autoanticorps responsable et l'étiologie présumée. Sont ainsi différenciées (tableau 3.6) : les AHAI à anticorps chauds ; les AHAI à anticorps froids ; les AHAI de type mixte ; l'hémoglobinurie paroxystique *a frigore*. Les anémies hémolytiques associées aux médicaments ne sont pas traitées dans cette section.

La transfusion de concentrés érythrocytaires constitue l'un des moyens disponibles dans le traitement symptomatique des AHAI. Toutefois, compte tenu des contraintes et des risques immunologiques spécifiquement associés, la thérapeutique transfusionnelle doit être réservée aux formes graves et mal tolérées.

Anémies hémolytiques auto-immunes à anticorps chauds

Le bilan immuno-hématologique pose des problèmes spécifiques qui imposent une collaboration entre le laboratoire d'immuno-hématologie et l'équipe médicale en charge du patient.

Recherche d'anticorps antiérythrocytaires

La recherche d'anticorps antiérythrocytaires détecte aussi bien les alloanticorps que les autoanticorps. Dans les AHAI, les autoanticorps sont, dans 80 % des cas, présents aussi bien sous forme libre dans le sérum que fixés sur les globules rouges. Les autoanticorps reconnaissent classiquement des antigènes érythrocytaires de fréquence élevée, présents chez plus de 99 % de la population générale (spécificités anti-RH17 [anti-pdl], anti-RH29 [anti-dl], etc.). Dans ce contexte, la recherche d'anticorps antiérythrocytaires montre une image de « pan-agglutination », c'est-à-dire la réactivité de l'ensemble du panel d'hématies tests. En cas de prescription de transfusion, il est indispensable d'engager les explorations biologiques complémentaires en vue de l'identification d'alloanticorps potentiellement masqués par l'autoanticorps. On distingue deux types de techniques : l'adsorption sur hématies

Tableau 3.6. Les différents types d'anémies hémolytiques auto-immunes et leurs principales caractéristiques.

	AHAI à autoanticorps chauds	AHAI à autoanticorps froids	AHAI de type mixte	Hémoglobinurie paroxystique *a frigore*
Autoanticorps	IgG (rarement IgM ou IgA)	IgM	IgG et IgM	IgG (hémolysine biphasique)
Présentation clinique	Variable : hémolyse extravasculaire prédominante	Anémie modérée Hémolyse intravasculaire possible	Clinique des AHAI à anticorps chauds, ou anticorps chauds et froids	Phase inaugurale brutale Anémie sévère Hémolyse intravasculaire
Recherche d'anticorps antiérythrocytaires	Profil typique : anticorps dirigé contre un antigène de fréquence élevée	Négative à 37 °C, sauf si anticorps de large amplitude thermique	Profil typique : anticorps dirigé contre un antigène de fréquence élevée	Négative à 37 °C
Test direct à l'antiglobuline	IgG (67 %), IgG + C3 (24 %) ; C3 (7 %)	C3 (> 90 %)	IgG + C3 (> 70 %)	C3 (> 95 %)
Éluat	Anticorps dirigé contre un antigène de fréquence élevée	Non réactif	Anticorps dirigé contre un antigène de fréquence élevée	Non réactif
Investigations et résultats complémentaires	Phénotypage étendu ou génotypage (Duffy, Kidd, MNS) Adsorption sur hématies autologues ou homologues	Titrage (≥ 64 à 4 °C) Amplitude thermique large	Faible titre de l'IgM à 4 °C (< 64) mais amplitude thermique large	Test de Donath-Landsteiner
Spécificité habituelle de l'autoanticorps	Anticorps à composante anti-RH (anti-RH29, anti-RH17, anti-D, anti-e, etc.)	Anti-I Anti-i		Anti-P

autologues ou « auto-adsorption », et l'adsorption sur hématies homologues ou « allo-adsorption » :

- l'adsorption sur hématies autologues consiste en la mise en présence du sérum du patient avec ses propres hématies à 37°C. Cette technique correspond à la méthode de choix, mais elle présente des limites : il n'est pas possible de l'utiliser dans un contexte transfusionnel, autrement dit si la dernière transfusion d'hématies date de moins de 4 mois (il y aurait un mélange d'hématies du patient et de celles du donneur, avec le risque d'adsorber *in vitro* les éventuels alloanticorps du patient sur les hématies récemment transfusées, si ces dernières présentent l'antigène correspondant) ; il est nécessaire de disposer d'une quantité suffisante de globules rouges du patient, ce qui est souvent difficile dans le cadre d'AHAI sévères avec hématocrite faible ; la capacité d'adsorption des hématies autologues est limitée ;
- l'adsorption sur hématies homologues consiste en la mise en présence, à 37°C, du sérum du patient avec des hématies de donneurs dont le phénotype a été judicieusement sélectionné. Cette technique présente trois avantages principaux : elle est utilisable dans un contexte transfusionnel ; elle ne nécessite pas de globules rouges du patient ; les hématies utilisées n'ont pas été sensibilisées *in vivo* par l'autoanticorps et présentent ainsi une capacité d'adsorption plus importante que les hématies autologues. Cette technique présente toutefois plusieurs inconvénients : les hématies adsorbantes sont difficilement disponibles pour de nombreux laboratoires ; la technique est de réalisation lourde (délai de plusieurs heures) ; il existe un risque, chez tout sujet présentant un groupe sanguin rare, de ne pas identifier l'anticorps anti-public correspondant, ce dernier se fixant sur les hématies adsorbantes.

Test direct à l'antiglobuline

Le test direct à l'antiglobuline, ou TDA (anciennement dénommé « test de Coombs direct »), est l'analyse biologique de base du diagnostic des AHAI. Il consiste à rechercher une sensibilisation des hématies *in vivo*, à l'aide d'une antiglobuline (polyvalente), reconnaissant à la fois les IgG et le complément. Si le TDA polyspécifique est positif, il convient alors de recourir à des réactifs monospécifiques, de type anti-IgG et anti-complément (anti-C3 le plus souvent).

Élution directe

Le test d'élution directe consiste à détacher (éluer) les anticorps fixés sur les hématies, puis à réaliser une recherche d'anticorps antiérythrocytaires sur l'éluat ainsi obtenu. Ce test permet de confirmer que le TDA positif est dû à la présence effective d'un autoanticorps.

Détermination du phénotype érythrocytaire du patient

La connaissance du phénotype étendu (FY, JK et MNS) s'avère très utile dans la prise en charge des AHAI. Ceci permet en particulier de connaître et respecter les antigènes majeurs vis-à-vis desquels le patient a pu ou pourrait

s'immuniser, dans l'hypothèse où les techniques d'adsorption ne seraient pas réalisables, ou dont le temps d'exécution ne serait pas compatible avec l'urgence transfusionnelle. Si le phénotypage étendu est réalisé selon un test indirect à l'antiglobuline (Coombs indirect), ce qui est le cas pour nombre de réactifs disponibles sur le marché, les résultats peuvent alors apparaître faussement positifs si les hématies du patient sont recouvertes d'autoanticorps IgG. Par ailleurs, si un patient a été transfusé dans les 4 mois précédents, le phénotypage érythrocytaire n'est pas réalisable, puisque deux populations de globules rouges coexistent, celle du receveur et celle du donneur. Il est ainsi essentiel que tout patient suspecté d'AHAI puisse bénéficier d'un phénotype étendu avant toute transfusion : au minimum, les typages Fy^a, Fy^b, Jk^a, Jk^b, S et s. Si la réalisation du phénotypage étendu n'est pas possible pour les deux raisons préalablement évoquées, la technique de choix est la réalisation d'un génotypage.

Génotypage

La plupart des marqueurs de groupes sanguins correspondent à un polymorphisme de type « simple substitution », qu'il est possible d'étudier avec des techniques de biologie moléculaire spécialisées (PCR allèle-spécifique, PCR en temps réel, etc.) et, plus récemment, à l'aide de plateformes de génotypage à haut débit (puces à ADN). Le phénotype est alors déduit du génotype.

Transfusion de globules rouges

Le rapport bénéfice/risque de la transfusion doit être étroitement discuté entre le clinicien et le responsable du laboratoire d'immuno-hématologie, en tenant compte en particulier des antécédents transfusionnels et obstétricaux. Lorsque les fonctions vitales sont menacées, la transfusion doit être réalisée sans délai, même si les investigations immuno-hématologiques ne sont pas terminées.

Anémies hémolytiques auto-immunes à anticorps froids

Les AHAI à autoanticorps froid peuvent se manifester sous forme chronique, particulièrement chez le sujet âgé, et sont parfois associées à des hémopathies de type B (lymphomes, macroglobulinémie de Waldenström ou leucémie lymphoïde chronique). On parle alors de maladie des agglutinines froides. Il existe par ailleurs des formes d'apparition brutale et transitoire, survenant dans le cadre de complications de maladies infectieuses (*Mycoplasma pneumoniae*, virus d'Epstein-Barr), particulièrement rencontrées chez l'enfant. Le pouvoir pathogène de l'autoanticorps, de classe IgM, dépend de sa capacité d'activation du complément sur la membrane du globule rouge. L'autoanticorps se fixe sur l'hématie dans la circulation périphérique où la température corporelle est la plus basse (extrémités distales), puis fixe et active le complément.

Recherche d'anticorps antiérythrocytaires
Les paramètres étudiés de l'autoanticorps froids sont l'amplitude thermique, le titre, la classe, la spécificité. Les autoanticorps froids ont un optimum thermique d'activité à 4°C. Leur réactivité tend à disparaître lorsque la température d'incubation s'approche de 37°C. La plupart des sujets sains présentent, à l'état physiologique, des autoanticorps IgM, de titre ≤ 64. Dans les cas classiques d'AHAI avec autoanticorps froids, le titre de l'autoanticorps est nettement plus élevé (> 1 000 à 4°C). Les autoanticorps froids présentent classiquement une spécificité anti-I ou anti-i. Comme pour les AHAI à autoanticorps chauds, il est important de rechercher la présence d'éventuels alloanticorps associés à l'autoanticorps.

Test direct à l'antiglobuline
Le test direct à l'antiglobuline est, classiquement, de type complément exclusif. Il existe une corrélation directe entre le degré d'hémolyse et la quantité de complément fixé à la surface des hématies.

Transfusion de globules rouges
Lorsque le test de compatibilité directe au laboratoire est réalisé à 37°C, les unités de globules rouges peuvent apparaître incompatibles si l'autoanticorps froid présente une amplitude thermique large. La transfusion doit être indiquée avec précaution, mais elle est à considérer sans délai pour les cas les plus graves d'anémie, en particulier les formes fulminantes avec signes d'intolérance clinique majeure. Dans le cas d'un autoanticorps de spécificité anti-I, le recours à des unités de sang I négatif, phénotype rarissime, est illusoire.

Anémies hémolytiques mixtes

Ce type d'AHAI est réputé le plus sévère. Les patients atteints de lupus érythémateux systémique représentent 25 à 40 % de cette forme d'AHAI. Contrairement aux AHAI avec autoanticorps froids exclusifs, les autoanticorps IgM des AHAI mixtes ont un titre habituellement faible (< 64 à 4°C) mais une amplitude thermique large allant jusqu'à 37°C. Il importe de rechercher la présence éventuelle d'alloanticorps masqués par l'autoanticorps.

Hémoglobinurie paroxystique *a frigore*

L'hémoglobinurie paroxystique *a frigore*, à distinguer de l'hémoglobinurie paroxystique nocturne, est la forme la plus rare d'AHAI. Elle représente 5 à 40 % des AHAI de l'enfant, faisant souvent suite à un syndrome infectieux dont les principaux agents responsables sont *Mycoplasma pneumoniae* et les virus responsables d'infections ORL et bronchiques. L'hémolyse peut être fulminante et la thérapeutique transfusionnelle s'avérer nécessaire.

Recherche d'anticorps antiérythrocytaires
L'autoanticorps, de classe IgG, est dénommé « hémolysine biphasique » ou « hémolysine de Donath-Landsteiner ». Cet anticorps se fixe sur les hématies

à froid et active alors les deux premiers composants du complément. La cascade enzymatique du complément se poursuit lorsque les hématies sont réchauffées à 37°C dans la circulation générale, ce qui aboutit à l'hémolyse. L'autoanticorps est de spécificité anti-P.

Transfusion de globules rouges

Dans la mesure où l'autoanticorps responsable est rarement agglutinant *in vitro* au-delà de 4°C, les unités de sang auront de fortes chances d'être trouvées compatibles à 37°C. Il apparaît illusoire de recourir à des unités de globules rouges P négatif pour la transfusion de ces patients, un tel phénotype étant tout à fait exceptionnel (prévalence < 1 pour 200 000). Par ailleurs, et malgré l'absence de données consensuelles, plusieurs études suggèrent l'intérêt de réchauffeurs de sang. Le recours à des unités de globules rouges lavées, limitant l'apport de complément, ne semble cependant pas apporter d'avantages significatifs en termes de sécurité transfusionnelle. Il est essentiel de respecter autant que faire se peut le phénotype du patient, plutôt que tout ou partie du phénotype du sang à transfuser. C'est dans ces conditions que l'on obtient des résultats probants.

Allo-immunisation antiérythrocytaire

Les groupes sanguins représentent la base immunologique fondamentale de la transfusion sanguine. L'un des principaux axes de la sécurité transfusionnelle consiste à éviter la rencontre d'un antigène avec l'anticorps spécifique correspondant. Une telle éventualité représente ce que l'on appelle une « incompatibilité ». Le cas échéant, l'anticorps se fixe sur son antigène situé sur la membrane du globule rouge, lequel sera alors voué soit à une destruction rapide, sinon immédiate, dans les vaisseaux, soit à une phagocytose par les cellules macrophagiques. Ce type de situation correspond alors à un accident hémolytique, respectivement de type aigu ou retardé. Dans l'immense majorité des cas, ce sont les anticorps présents chez le receveur qui risquent d'entrer en conflit avec les antigènes apportés par les hématies du donneur. Les hématies sensibilisées peuvent alors être détruites, soit dans la circulation sanguine (hémolyse intravasculaire, généralement de type aigu), soit, plus souvent, par des cellules macrophagiques (hémolyse extravasculaire ou intratissulaire, généralement de type retardé).

Le polymorphisme génétique constitue une barrière immunologique incontournable dans la transfusion de globules rouges. En dehors des jumeaux monozygotes, il n'est pas possible d'être en situation de phénoidentité parfaite entre le donneur et le receveur pour l'ensemble des marqueurs de groupes sanguins. La transfusion d'hématies demeure bien sûr possible en situation allogénique, mais elle nécessite un certain nombre de précautions et de règles qu'il importe de respecter.

Les anticorps en cause dans l'immunisation antiérythrocytaire sont de diverses origines :

- anticorps « naturels » réguliers (exemple des anticorps anti-A et anti-B) ;
- anticorps « naturels » irréguliers (exemple des anticorps anti-Lewis) ;
- anticorps « immuns » provenant d'une allo-immunisation vis-à-vis de divers antigènes introduits soit par les transfusions antérieures, soit par voie transplacentaire lors des grossesses (exemple des anticorps anti-D, anti-c, anti-K, anti-Fy^a, anti-Jk^a, etc.).

Anticorps naturels

Les anticorps naturels apparaissent à la suite d'une stimulation immunitaire en situation non allogénique. Les antigènes responsables sont le plus souvent issus de l'environnement : végétaux, cellules d'origine animale, bactéries, virus, parasites, etc.

Système ABO

Dans le système ABO, c'est l'anticorps du receveur qu'il est essentiel de prendre en compte pour la transfusion de globules rouges. En règle générale, il est recommandé de transfuser en « isogroupe » : A pour A, O pour O, etc. (principe de phéno-identité). À défaut, on utilise des globules rouges « compatibles » : sang O pour receveur A, B ou AB, sang A pour receveur AB, etc. (principe de phéno-compatiblité). Si par erreur, le schéma classique de compatibilité ABO n'est pas respecté lors de la transfusion, les anticorps naturels anti-A et anti-B du receveur sont à l'origine de la destruction des hématies transfusées.

L'anticorps du receveur, en se fixant sur les hématies transfusées porteuses de l'antigène correspondant, peut provoquer une hémolyse intravasculaire brutale, avec déversement du contenu intracellulaire des globules rouges dans la circulation. Cet accident hémolytique peut se compliquer par :

- un collapsus cardiovasculaire, lié à la production de puissantes anaphylatoxines et de nombreuses cytokines ;
- une atteinte rénale : la capacité de réabsorption de l'hémoglobine libre par le rein étant limitée, une hémoglobinurie apparaît, avec risque de précipitation dans les tubules rénaux. Dans les formes les plus graves, ceci peut entraîner la formation de cylindres et une nécrose tubulaire secondaire, avec développement d'une insuffisance rénale aiguë ;
- une activation des processus de la coagulation, pouvant, dans les formes les plus graves, aboutir à une coagulation intravasculaire disséminée.

En règle générale, les anticorps ABO du donneur sont sans danger pour les hématies du receveur : ils sont rapidement dilués dans la circulation du receveur et s'absorbent sur les antigènes tissulaires A et/ou B de la paroi vasculaire. Néanmoins, il n'en est pas toujours ainsi, en particulier s'il s'agit d'anticorps de classe IgG (hémolysines anti-A/B) et en cas de transfusion

d'un volume d'anticorps important (produits sanguins de type plasma ou plasma-plaquettes).

« Le donneur universel dangereux »

Chez un certain nombre de sujets de groupe O (5 à 10 %), il existe des anticorps anti-A, plus rarement anti-B, de classe IgG majoritaire et possédant une activité hémolytique à 37°C. L'injection d'un tel sang O à des receveurs A ou B peut provoquer des accidents hémolytiques sévères. Ceci était particulièrement vrai lors de la transfusion de sang total, situation devenue exceptionnelle de nos jours. La quantité de plasma résiduel est aujourd'hui très faible dans les concentrés érythrocytaires (< 25 ml). Le risque est donc très limité avec ce type de produit, mais la recherche d'hémolysines anti-A/B demeure obligatoire en France chez tous les donneurs de globules rouges. La situation la plus à risque correspond à la transfusion de produits plaquettaires suspendus dans une quantité importante de plasma. La transfusion de plaquettes non isogroupe est relativement fréquente, du fait de la forte demande de ce type de produit. Ceci est possible à la seule condition que le donneur soit dépourvu d'hémolysines reconnaissant les hématies du receveur. Il est par ailleurs impératif d'identifier la présence d'hémolysines sur l'étiquette des produits sanguins érythrocytaires et plaquettaires.

Autres systèmes

Anticorps naturels réguliers

Il existe des anticorps naturels réguliers très dangereux, qu'il est impératif de respecter en cas de transfusion de globules rouges. Les deux principaux exemples sont l'anticorps anti-H des sujets présentant le groupe sanguin rare Bombay (O_h), et l'anticorps anti-PP_1P^k (anciennement anti-Tj^a) des sujets Tj(a–). Ce contexte nécessite le recours à du sang rare cryopréservé.

Anticorps naturels irréguliers

Les anticorps naturels réguliers de spécificité anti-Lewis (anti-Le^a, anti-Le^b), anti-M et anti-P1 représentent les exemples les plus fréquents. Ces anticorps ne sont habituellement pas considérés comme dangereux en transfusion, car ils sont le plus souvent de classe IgM et de titre relativement faible à 37°C. Une exception importante concerne cependant le malade drépanocytaire immunisé contre l'un de ces antigènes, pour lequel il est préconisé le recours systématique à des unités de globules rouges phéno-compatibles, y compris si l'anticorps n'est plus présent dans le sérum.

Anticorps immuns

Alloanticorps

La production d'alloanticorps immuns fait suite à différents types de stimulus immunologiques : transfusion, grossesse, greffe d'organes ou de tissus,

toute autre situation permettant le passage d'antigènes érythrocytaires d'un individu à l'autre (toxicomanie intraveineuse avec échange de seringues, par exemple).

De la recherche d'anticorps irréguliers (RAI) à la prévention de l'allo-immunisation

Chez un sujet transfusé dans le passé ou chez une femme ayant eu des enfants, une RAI négative ne signifie en aucun cas l'absence d'allo-immunisation. En effet, une nouvelle transfusion peut réactiver à tout moment un anticorps non décelable et induire sa réapparition rapide, ce qui peut provoquer une hémolyse retardée (plus rarement aiguë) des hématies injectées. L'anticorps ne sera pas détectable immédiatement. Il existe en effet un temps de latence pour la production de l'anticorps en quantité significative et ce dernier s'absorbera au fur et à mesure de sa production sur les hématies incompatibles du donneur. Il faut en général attendre au moins 7 jours pour pouvoir le dépister dans le sérum. Si les hématies incompatibles ne sont pas entièrement détruites, il est possible d'éluer l'anticorps fixé à la surface des hématies du patient et de prouver ainsi son rôle dans l'hémolyse constatée. Les résultats du bilan immuno-hématologique n'ont donc de sens que si l'on tient compte du moment où il est réalisé par rapport aux dernières transfusions.

Sur le plan pratique, le choix du sang à transfuser chez un patient allo-immunisé (dans le cas où de nouvelles transfusions s'imposeraient) se fondera, bien sûr, sur les anticorps déjà décelés dans le sérum (et éventuellement dans l'éluat), mais également sur le phénotype étendu du malade (Duffy, Kidd et MNS). Ainsi, on évitera, dans toute la mesure du possible, de lui apporter les antigènes reconnus comme le plus souvent en cause dans les allo-immunisations post-transfusionnelles et qu'il ne posséderait pas.

Principaux systèmes de groupes sanguins impliqués

Hors système ABO, cinq systèmes de groupes sanguins sont considérés comme d'importance capitale en transfusion sanguine dans la pratique courante.

Système RH

Le système Rh est le plus important en transfusion, après le système ABO. Il est à noter que le terme « Rhésus » ne doit plus être utilisé aujourd'hui car il est issu d'une méprise historique en lien avec le système de groupe sanguin LW. Ce système est porté par les protéines RHD et RHCE, respectivement codées par les gènes *RHD* et *RHCE*. L'antigène D est le plus immunogène des antigènes de groupe sanguin ; ainsi, tout receveur RHD négatif doit être transfusé avec du sang RHD négatif. Il peut arriver que l'on observe

des réactions inattendues lors du typage RHD d'un individu ; par exemple, les globules rouges d'un sujet peuvent être fortement agglutinés par un réactif anti-D et faiblement, voire non agglutinés, par un autre réactif. Il s'agit de variants phénotypiques de l'antigène D, correspondant aux phénotypes D faible (anciennement D^u) et D partiel. Les sujets D faible ne produisent pas d'alloanticorps anti-D (à l'exception à ce jour des phénotypes D faible de type 4.0, 4.2, 11 et 15), alors que les sujets D partiel peuvent produire un alloanticorps anti-D. Il n'est malheureusement pas possible de distinguer de manière fiable les phénotypes D faible et D partiel à l'aide des outils sérologiques standards. Seuls les tests de biologie moléculaire permettent de trancher.

La Société internationale de transfusion sanguine considère comme inutile, voire dangereux, de rechercher un phénotype D faible chez les malades. En France, la recherche du phénotype D faible chez les donneurs dépistés D négatif est prise en compte uniquement en cas de présence d'un antigène C et/ou E, et à condition que le réactif anti-D utilisé montre des performances compatibles avec les critères des bonnes pratiques de qualification du don en vigueur.

Les sujets de phénotype D partiel se caractérisent par la présence de remaniements génétiques au niveau du gène *RHD* qui aboutissent à des modifications de la partie extramembranaire de la protéine RHD. De tels sujets apparaissent RHD positif avec la plupart des réactifs monoclonaux et peuvent développer un alloanticorps contre la partie de l'antigène D qu'ils ne possèdent pas, soit par transfusion, soit par grossesse.

La présence paradoxale d'un alloanticorps anti-D chez de tels sujets D positif à caractère partiel peut être dépistée :

- lors d'une RAI prétransfusionnelle ;
- à la suite d'un accident transfusionnel ;
- à l'occasion d'une maladie hémolytique du nouveau-né (MHNN).

Les patients présentant un phénotype D partiel sont à considérer comme des sujets RHD négatif d'un point de vue transfusionnel et obstétrical.

Il existe par ailleurs de nombreux variants de la protéine RHCE, rencontrés en particulier chez les sujets d'origine africaine/antillaise. Certains de ces variants correspondent à des groupes sanguins rares et présentent un intérêt majeur en termes de sécurité transfusionnelle et obstétricale. Citons pour exemple les phénotypes rares RH:–18 (Hr^{S-}), RH:–34 (Hr^{B-}) et RH:–46 (R^NR^N), susceptibles de produire respectivement les anticorps anti-public anti-RH18, anti-RH34 et anti-RH46.

À de rares exceptions près, il importe de rappeler que tous les anticorps dirigés contre des antigènes du système RH sont potentiellement dangereux. Il est à noter que l'anticorps anti-c est particulièrement toxique dans le cadre de la MHNN, y compris s'il a un titre faible.

Sang O Rh négatif et urgence transfusionnelle

Il est classique de recourir à du sang O Rh négatif dans le cadre de l'urgence transfusionnelle, lorsque le groupe sanguin du patient n'est pas connu et n'a pu être réalisé avant la transfusion. Il importe cependant de connaître les risques d'une telle approche :

- le sang de groupe O est incompatible avec les sujets présentant un groupe rare Bombay (O_h). Il s'agit certes d'une situation rare, mais elle peut exister ;
- le sang Rh négatif n'est pas universel pour le système Rh ! La quasi-totalité des sujets D– sont c+ et e+ (phénotype D– C– E– c+ e+). Ainsi, si le receveur présente un anticorps anti-c ou anti-e, administrer du sang Rh négatif classique risque de provoquer une réaction hémolytique. Ceci est également important à prendre en compte lors de la transfusion d'un nouveau-né dont la mère serait immunisée par un anticorps anti-c ;
- le phénotype O Rh négatif du donneur ne présage en rien de la nature de son phénotype étendu. Ainsi, administrer du sang O Rh négatif et Jk(a+) à un receveur qui possède un anticorps anti-Jk^a peut provoquer une réaction hémolytique sévère.

En dehors de l'urgence vitale avérée, toute transfusion de sang O Rh négatif doit donc faire l'objet d'une analyse de type bénéfice/risque.

Système KEL

L'antigène K a le pouvoir immunogène le plus important après l'antigène D. L'anticorps anti-K peut être impliqué dans des réactions hémolytiques post-transfusionnelles sévères et provoquer une MHNN grave. Il faut donc éviter de provoquer une allo-immunisation, en particulier chez les sujets de sexe féminin en âge de procréer. L'anticorps anti-k (anti-Cellano) est exceptionnel : les sujets k– sont rares (prévalence de 2/1 000) et l'antigène k est peu immunogène.

Système FY

L'antigène Fy^a est le plus immunogène du système Duffy. Il peut être impliqué dans des réactions hémolytiques post-transfusionnelles sévères et provoquer une MHNN. L'anticorps anti-Fy^b est beaucoup plus rare ; il est surtout rencontré chez le sujet poly-immunisé.

Système JK

L'anticorps anti-Jk^a est un anticorps particulièrement dangereux. Ceci est d'autant plus vrai que cet anticorps est souvent difficile à mettre en évidence lors de la RAI, car il se situe fréquemment sous le seuil de sensibilité des techniques habituelles. Il faut parfois recourir à des techniques de deuxième intention plus sensibles pour confirmer la présence de cet anticorps. L'anticorps anti-Jk^b est plus rare, mais peut se révéler tout aussi dangereux.

Système MNS
Parmi les anticorps classiques (anti-M, anti-N, anti-S et anti-s), l'anticorps anti-S est celui ayant l'intérêt le plus important. Cet anticorps est le plus souvent retrouvé chez les patients poly-immunisés.

Cas particuliers

Anticorps de type « HTLA »
Les anticorps regroupés sous le nom de « HTLA » (*High Titer Low Affinity*) sont relativement fréquents mais d'importance clinique modérée, voire inexistante. Leur détection croissante tient au progrès des techniques de recherche d'anticorps antiérythrocytaires en termes de sensibilité. La plupart des antigènes correspondant à ce type d'anticorps sont de fréquence élevée, de sorte qu'il est difficile, voire illusoire, de trouver du sang compatible. La liste de ces antigènes est longue ; elle comporte en particulier les antigènes Cs^a, Kn^a, McC^a, Yk^a, Cr^a, Ch^a, Rg^a, etc. Ces anticorps ne présentent pas d'intérêt obstétrical ni transfusionnel, mais ils peuvent masquer la présence ou l'apparition d'anticorps d'importance clinique.

Les anticorps anti-Co^a, anti-Yt^a, anti-Ge2, anti-Ge3, anti-Jr^a, dont le profil sérologique peut évoquer un anticorps de type HTLA, doivent cependant être respectés en cas de transfusion de globules rouges, car des réactions hémolytiques post-transfusionnelles ont été décrites. Le recours à du sang de phénotype rare cryopréservé est alors nécessaire.

Anticorps dirigés contre un antigène de faible fréquence
Ces anticorps peuvent présenter un intérêt clinique. Ils sont rarement impliqués dans les réactions hémolytiques transfusionnelles, car la probabilité de rencontre entre l'anticorps et son antigène est extrêmement faible (il est rare de transfuser un patient plusieurs fois avec des hématies du même donneur). Ces anticorps peuvent cependant être responsables de MHNN graves, en particulier ceux reconnaissant des antigènes privés du système MNS (antigènes Mi^a, Vw, He, M^g, etc.). Il importe de rappeler que l'allo-immunisation transfusionnelle est dite « tous azimuts » du fait de la grande diversité phénotypique rencontrée chez les donneurs de sang. Au contraire, l'allo-immunisation fœto-maternelle est dite « polarisée ». Seuls les antigènes incompatibles du procréateur sont en effet ciblés par le système immunitaire de la mère, et la probabilité de transmission au fœtus est élevée au cours des grossesses successives (50 % en cas d'expression hétérozygote, 100 % en cas d'expression homozygote).

Anticorps produits par les sujets présentant un groupe sanguin rare
Plus de 700 000 personnes d'origine Caucasienne présentent un groupe sanguin rare en France. Un phénotype érythrocytaire rare est habituellement défini par l'absence d'expression d'un antigène de fréquence élevée (sujets « public négatif ») ou par l'absence de plusieurs antigènes au sein d'un même système de groupe (exemples des sujets D+ C+ E+ c– e–, D– C+ E– c– e+ et D– C– E+ c+ e–), dès lors que la prévalence du phénotype dans

la population générale est inférieure à 4 pour 1 000 selon la réglementation française. La plupart des cas sont découverts fortuitement lors d'un bilan prétransfusionnel ou de suivi de grossesse, lorsque les sujets présentent l'anticorps correspondant à leur spécificité rare, ou lors d'un bilan de qualification biologique du don. Le Centre national de référence pour les groupes sanguins (Institut national de la transfusion sanguine) et la Banque nationale de sang de phénotype rare (Établissement français du sang, Ile-de-France) représentent en France les deux structures essentielles permettant d'assurer la sécurité transfusionnelle et obstétricale des sujets présentant un groupe rare. À ce jour, 165 spécificités rares sont répertoriées au CNRGS et le fichier national des sujets présentant un phénotype/génotype érythrocytaire rare compte près de 12 500 individus, incités à donner régulièrement leur sang pour cryopréservation à long terme à – 80°C. Au cours des quinze dernières années, environ 40 % des unités de sang rare ont été délivrées, après avis conforme du CNRGS, à des malades drépanocytaires.

Données épidémiologiques

Indépendamment de tout historique obstétrical, il est connu depuis longtemps que les femmes s'immunisent environ deux fois plus que les hommes vis-à-vis des antigènes érythrocytaires. Ce point est toutefois aujourd'hui controversé selon le résultat de certaines récentes études. Certaines pathologies représentent par ailleurs des facteurs censés favoriser l'allo-immunisation : les pathologies hépatiques (virales, auto-immunes, toxiques), le diabète, les tumeurs solides, un antécédent de greffe de moelle osseuse, une allo-immunisation (HLA, érythrocytaire) ou une auto-immunisation préexistantes, un contexte inflammatoire.

D'autres situations sont réputées protectrices vis-à-vis de l'allo-immunisation, comme une immunodépression acquise ou constitutive, le nouveau-né, le patient hémodialysé, les syndromes lymphoprolifératifs, l'athérosclérose clinique.

Les anticorps naturels irréguliers montrent une prévalence très variable dans la population générale, allant de valeurs très faibles (cas de l'anticorps anti-M naturel, présent chez 0,02 % des sujets M–) à des valeurs beaucoup plus élevées. Par exemple, l'anticorps anti-A1 est présent chez environ 5 % des sujets A_2, l'anticorps anti-A1 chez 25 % des sujets A_2B et l'anticorps anti-Le^a chez 20 % des sujets Le(a–b–).

La prévalence des anticorps immuns irréguliers est de 0,2 à 1 % dans la population générale. Elle est d'environ 3 % dans une population de patients tout venant, et de l'ordre de 20 % chez les malades polytransfusés, en particulier les sujets drépanocytaires.

Allo-immunisation et génotype HLA

On sait depuis plusieurs décennies que 10 à 20 % des sujets sont totalement réfractaires à l'allo-immunisation anti-D. Des facteurs génétiques ont été évoqués pour expliquer la notion de « bons » et de « mauvais

répondeurs » en termes de capacité de réponse immunitaire vis-à-vis de tel ou tel antigène. Mais ce n'est que bien plus tard qu'a été mis en évidence un lien formel entre l'allo-immunisation antiérythrocytaire et le génotype HLA. Environ 15 % des sujets qui présentent un anticorps anti-D sont de génotype HLA *DRB1*1501*. Récemment, des liens étroits ont été montrés entre l'allo-immunisation anti-K, anti-Fy^a et anti-Jk^a et le génotype HLA. Un exemple frappant concerne l'allo-immunisation anti-Fy^a, dans laquelle 100 % des sujets concernés se révèlent de génotype HLA *DRB1*04*.

Génotypage et prévention de l'allo-immunisation

La disponibilité récente de plateformes de génotypage à haut débit (puces à ADN), permettant de déduire le phénotype érythrocytaire à partir du génotype, représentera certainement une révolution prochaine dans la prévention de l'allo-immunisation. Le génotypage des patients, associé à l'existence de banques de donneurs de sang génotypés pour les principaux marqueurs de groupes sanguins, rendrait alors possible le respect systématique des antigènes érythrocytaires considérés comme les plus immunogènes, et limiterait ainsi le risque d'allo-immunisation. Le concept de « phéno-compatibilité » sera ainsi certainement voué à évoluer dans les années à venir vers celui de « géno-compatibilité ».

3.3 Sécurité immuno-hématologique des receveurs

Bien que le concept de sécurité immuno-hématologique s'applique aux produits sanguins de façon générale, seule celle en rapport avec la transfusion de concentrés globulaires est traitée dans cette section. La transfusion de concentrés globulaires est un acte médical : elle comporte donc des risques, tout comme l'abstention de la réaliser. Il importe par conséquent de toujours évaluer le rapport bénéfice/risque de la décision prise. C'est dans le but d'une certaine rationalisation des prescriptions qu'ont été émises, par l'Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé (Afssaps, 2002 ; désormais ANSM), des recommandations de bonnes pratiques concernant la transfusion de concentrés de globules rouges homologues[1].

La base de la sécurité immuno-hématologique est la compatibilité entre les caractéristiques érythrocytaires du donneur et celles du receveur. Sur le plan immuno-hématologique, l'ensemble des antigènes présents à la surface des hématies d'un individu détermine le phénotype érythrocytaire. Seul un nombre limité d'antigènes érythrocytaires composant ce phénotype

1. http://ansm.sante.fr/var/ansm_site/storage/original/application/cb4b2595aed2f3889bee4a4b5bd76c98.pdf

érythrocytaire est recherché en pratique courante. Lors de transfusions, de situations de greffe, ou après passage d'hématies fœtales dans la circulation sanguine maternelle, l'introduction, dans l'organisme, d'un antigène érythrocytaire non présent à la surface des hématies de l'hôte peut induire une réponse immunitaire, dont l'expression humorale est la synthèse d'anticorps antiérythrocytaires spécifiques de l'antigène cible. La capacité de développer une réponse immunitaire dépend en partie du génotype HLA d'un individu. En outre, l'immunogénicité des systèmes de groupe sanguin n'est pas équivalente d'un système à un autre, les plus immunogènes étant les systèmes RH (Rh), KEL, FY (Duffy), JK (Kidd) et MNS. En transfusion, la survenue de l'allo-immunisation antiérythrocytaire est l'un des problèmes essentiels posés par les patients nécessitant des transfusions répétées de concentrés globulaires.

La spécificité des alloanticorps identifiés est rapportée dans le tableau 3.7. La fréquence d'apparition d'alloanticorps antiérythrocytaires va de 1 à 35 % en fonction du type de transfusés et des pratiques transfusionnelles. Le risque est particulièrement élevé dans des pathologies comme la drépanocytose. Chez les sujets multitransfusés non drépanocytaires, la fréquence d'allo-immunisation primaire serait de 1 à 5 %. Chez les thalassémiques homozygotes, elle serait comprise entre 5 et 21 %. Chez les drépanocytaires homozygotes, elle serait comprise, selon les études, entre 6 et 35 %, avec une médiane à 25 %. Outre la susceptibilité génétique, plusieurs facteurs pourraient expliquer ces fourchettes larges au sein d'une même catégorie de patients : le niveau de « phéno-compatibilité » des concentrés globulaires transfusés (transfusion inter- ou intra-ethnique), le nombre de concentrés globulaires transfusés et le délai écoulé entre l'acte transfusionnel et la recherche d'alloanticorps antiérythrocytaires.

L'exigence de compatibilité phénotypique entre donneurs et receveurs peut se situer à plusieurs niveaux. Selon les pays, la pratique transfusionnelle, lorsque la recherche d'anticorps antiérythrocytaires est négative, est d'avoir une compatibilité donneur-receveur au niveau ABO-RH1 seulement, ou au niveau ABO, RH et KEL1. La compatibilité au niveau ABO, RH, KEL1, FY, JK et MNS n'est évoquée que dans certains cas. En cas de compatibilité

Tableau 3.7. Fréquence relative des alloanticorps antiérythrocytaires identifiés.

	RH (anticorps anti-RH1 exclus)	KEL	FY	JK	Autres
Après transfusion	52 %	29 %	10 %	4 %	5 %
Après réaction hémolytique immédiate	42 %	30 %	18 %	9 %	1 %
Après réaction hémolytique retardée	34 %	15 %	16 %	33 %	2 %

au niveau ABO-RH1 seulement, le risque d'allo-immunisation serait associé à la différence ethnique entre donneurs et receveurs, reflétant le polymorphisme des systèmes RH, KEL, FY et JK, notamment. Chez les patients drépanocytaires, qui sont majoritairement d'origine africaine/antillaise, la fréquence d'apparition d'alloanticorps antiérythrocytaires était de 30 % lorsque les dons provenaient principalement de donneurs d'origine caucasienne *versus* 6 % lorsque les donneurs étaient d'origine africaine. La différence phénotypique entre donneurs d'origine caucasienne et patients drépanocytaires a été clairement établie. Les alloanticorps identifiés chez ces patients avaient une spécificité anti-KEL1 (Kell), anti-RH3 (E), anti-RH2 (C), anti-JK2 (Jk^b) et anti-FY1 (Fy^a) dans respectivement 26 %, 24 %, 16 %, 10 % et 6 % des cas. Chez les thalassémiques, des études réalisées en Italie et en Grèce ont rapporté une fréquence d'allo-immunisation de 5 à 10 %, *versus* 21 % chez les thalassémiques d'origine asiatique. Cette différence serait, là aussi, en rapport avec le polymorphisme des systèmes de groupe sanguin, différent entre donneurs et receveurs.

Le second facteur influant sur le risque d'allo-immunisation est le nombre de concentrés globulaires transfusés. Cette notion vient cependant d'être remise en question. Enfin, l'intervalle entre l'acte transfusionnel et la recherche d'alloanticorps antiérythrocytaires serait un élément à ne pas sous-estimer pour évaluer correctement l'apparition d'alloanticorps après transfusion.

Au total, il apparaît que la sécurité transfusionnelle répond à deux exigences : maîtriser le risque immunologique et prévenir l'allo-immunisation antiérythrocytaire.

Risque immunologique

Maîtriser le risque immunologique sous-entend éviter la survenue de réactions hémolytiques consécutives à une transfusion dite incompatible. Les réactions hémolytiques peuvent être liées à la présence d'anticorps antiérythrocytaires naturels et/ou immuns. Par anticorps naturels, on entend les anticorps présents avant toute allostimulation par transfusion ou par grossesse (par exemple, les anticorps du système ABO). Par anticorps immuns, on entend les anticorps induits par allostimulation antigénique après transfusion ou grossesse. Rechercher systématiquement la présence de ces anticorps antiérythrocytaires avant tout acte transfusionnel est essentiel pour pallier la survenue de réactions hémolytiques immédiates ou tardives.

Groupage ABO-RH1

La réalisation d'un groupage ABO, élément essentiel et incontournable de la sécurité immuno-hématologique avant l'acte transfusionnel, a pour finalité de mettre en évidence et de typer les anticorps ABO du receveur, afin

d'éviter tout conflit antigène/anticorps en rapport avec une incompatibilité ABO. Néanmoins, malgré nombre de mesures obligatoires mises en place depuis de nombreuses années, les incompatibilités ABO restent une cause persistante des « incidents indésirables receveurs » recensés à travers les déclarations d'hémovigilance.

La mise en évidence des anticorps ABO s'effectue dans le cadre de l'analyse appelée « groupage ABO-RH1 ». Le groupage ABO repose en effet sur deux épreuves complémentaires et indissociables : une épreuve plasmatique ou sérique, et une épreuve globulaire.

En plus du phénotype ABO, le groupage ABO-RH1 détermine de façon indissociable, comme son nom l'indique, le phénotype RH1 (D). Il faut cependant avoir à l'esprit que la détermination du phénotype RH1 (D) ne rentre pas dans le cadre de la maîtrise du risque immunologique, mais dans celui de la prévention de l'allo-immunisation antiérythrocytaire. À ce jour, le groupage sanguin ABO-RH1 n'est valide que lorsqu'il est réalisé sur deux prélèvements différents, à raison d'une détermination par prélèvement (arrêté du 26 avril 2002, modifiant l'arrêté du 26 novembre 1999 relatif à la bonne exécution des analyses de biologie médicale).

Recherche d'anticorps antiérythrocytaires

Cette étape du bilan immuno-hématologique, avant l'acte transfusionnel, est cruciale et doit être réalisée avec soin, et ne pas donner lieu à une interprétation abusive. Classiquement dénommée « RAI » (acronyme correspondant à l'ancien terme « recherche d'agglutinines irrégulières »), la recherche d'anticorps antiérythrocytaires est réalisée à l'aide de techniques actuellement fondées sur le principe de l'agglutination. Si le test de dépistage s'avère positif, il faut déterminer la spécificité de l'anticorps détecté avec une technique dite d'identification. La présence d'un anticorps dirigé contre un antigène de fréquence élevée (dénommé anticorps « anti-public ») nécessite d'envoyer pour identification les prélèvements sanguins à un laboratoire d'immuno-hématologie de référence (Centre national de référence pour les groupes sanguins, CNRGS, notamment). La « nature » alloanticorps ou autoanticorps de l'anticorps antiérythrocytaire est discutée sur la base du phénotype érythrocytaire du patient. Si nécessaire, des techniques d'adsorption du sérum sur hématies autologues et/ou des hématies du panel devront être utilisées en complément. En effet, il importe d'éliminer la présence d'alloanticorps antiérythrocytaires, souvent associés à des autoanticorps antiérythrocytaires (environ 30 % des cas). En cas d'alloanticorps antiérythrocytaires, la spécificité de l'anticorps détecté permet d'identifier les anticorps cliniquement significatifs sur le plan transfusionnel (anticorps potentiellement responsables de réactions hémolytiques post-transfusionnelles) et/ou sur le plan obstétrical (anticorps potentiellement responsables de maladie hémolytique du nouveau-né).

Épreuve de compatibilité au laboratoire

Par définition, cet examen consiste à tester l'échantillon de sérum ou de plasma (éventuellement l'éluat ou l'adsorbat) du receveur vis-à-vis des hématies de la tubulure du produit sanguin à transfuser. La finalité de cet examen est double : vérifier l'absence d'incompatibilité ABO (contrôle de l'épreuve sérique ABO du receveur) et rechercher la présence d'anticorps antiérythrocytaires non détectés par la RAI (anticorps dirigé contre un antigène de faible fréquence, classiquement dénommé anticorps « privé »). L'épreuve de compatibilité au laboratoire doit être réalisée selon les mêmes modalités techniques que la recherche d'anticorps antiérythrocytaires. Un résultat négatif est en faveur d'un risque maîtrisé de conflit antigène/anticorps.

Prévention de l'allo-immunisation antiérythrocytaire

La prévention de l'allo-immunisation repose sur la caractérisation du phénotype érythrocytaire du receveur et le choix de concentrés globulaires « phéno-compatibles », c'est-à-dire de concentrés globulaires n'apportant pas les antigènes érythrocytaires non exprimés à la surface des globules rouges du receveur dans les systèmes de groupe sanguin d'intérêt. En France, les bonnes pratiques en immuno-hématologie préconisent, avant toute transfusion de concentrés globulaires, de déterminer, en complément du groupe ABO, le phénotype ciblant les principaux antigènes immunogènes, à savoir les antigènes RH1 (D), RH2 (C), RH3 (E), RH4 (c), RH5 (e) du système RH, et l'antigène KEL1 (Kell) du système KEL. L'ensemble de ces caractéristiques immuno-hématologiques correspond à la dénomination de « groupe sanguin ABO-RH1 » et de phénotype « RH-KEL1 ». Toutefois, lorsque les besoins transfusionnels des patients sont évalués comme pouvant être récurrents, avec un risque d'allo-immunisation antiérythrocytaire accru, le phénotypage érythrocytaire est complété par la recherche des antigènes FY1 et FY2 (Fy^a et Fy^b) du système FY, des antigènes JK1 et JK2 (Jk^a et Jk^b) du système JK, et des antigènes MNS3 et MNS4 (S et s) du système MNS. Ce phénotype érythrocytaire est alors appelé, en pratique courante, « phénotype étendu ».

Phénotypage érythrocytaire

Classiquement, l'étude de l'expression des antigènes érythrocytaires repose sur une réaction antigène-anticorps mise en évidence par les techniques d'hémagglutination, essentiellement.

Phénotype RH-KEL1

Le concept de polymorphisme de groupe sanguin dans les populations peut être illustré par le système RH, qui est le plus complexe et le plus

immunogénique des systèmes de groupe sanguin. Les antigènes du système RH sont codés par deux gènes, le gène *RHD* et le gène *RHCE* (figure 3.2). Le gène *RHD* code la protéine portant l'antigène majeur RH1 (D), tandis que le gène *RHCE* code la protéine portant les polymorphismes RH2/RH4 (C/c), et RH3/RH5 (E/e), selon différentes combinaisons : RH2/RH5, RH4/RH5, RH2/RH3, RH4/RH3 (Ce, ce, CE, or cE). La fréquence des allèles des gènes *RHD* et *RHCE* varie selon l'origine ethnique des individus, d'où la variation de prévalence des phénotypes RH en fonction des populations (tableau 3.8).

En France, la détermination du phénotype RH-KEL1 fait nécessairement appel à l'utilisation d'anticorps monoclonaux. Le phénotypage RH se heurte parfois à des difficultés liées à la présence de « variants RH ». L'expression des protéines RH au niveau de la membrane érythrocytaire présente en effet des modifications, tant sur le plan qualitatif que sur le plan quantitatif, chez certains individus. Cette variabilité d'expression des antigènes du système RH correspond à la notion de « variants RH ». Les gènes *RHD* et *RHCE* sont des gènes homologues (96 % d'identité) étroitement liés, dont l'organisation particulière facilite nombre de réarrangements géniques, à l'origine des variants RH. Les variants de l'antigène RH1 (D) sont appelés variants RHD, tandis que les variants des antigènes RH2 (C), RH3 (E), RH4 (c) ou RH5 (e) sont appelés variants RHCE. Les variants RHD et RHCE sont caractérisés par un affaiblissement d'expression par rapport à un antigène normal (antigène RH faible), par l'absence de certains épitopes immunogènes (antigène RH partiel) ou encore la perte d'expression d'un antigène de fréquence élevée, associée à une expression éventuelle de nouveaux épitopes (apparition d'un antigène de faible fréquence).

Seul est discuté ici l'exemple des variants RHD. Il en existe un grand nombre répertorié à ce jour. S'il est démontré que les individus porteurs d'un variant RHD donné peuvent s'immuniser à la faveur d'une exposition à l'antigène RH1 (D) complet lors de transfusion ou au cours d'une grossesse, avec synthèse d'alloanticorps anti-RH1 (D), le variant RHD est alors considéré comme un antigène RH1 (D) partiel. Compte tenu des conséquences transfusionnelles de l'allo-immunisation anti-RH1 (D), il importe de typer les variants RHD, afin de déterminer s'il s'agit d'antigènes RH1 (D) partiels ou non. Sur le plan immuno-hématologique, la présence d'un variant RHD est suspectée en cas d'affaiblissement de l'expression de l'antigène RH1 (D), ou sur une discordance de résultats obtenus avec deux réactifs différents au cours de la réalisation du phénotypage RH1 (D). Seules les études en biologie moléculaire du gène *RHD* (génotypage *RHD*) peuvent, de façon fiable, typer les variants RHD.

Phénotype étendu

Sur le plan réglementaire, cet examen consiste à rechercher un ou plusieurs antigènes érythrocytaires autres que ceux définis par le groupe ABO-RH1

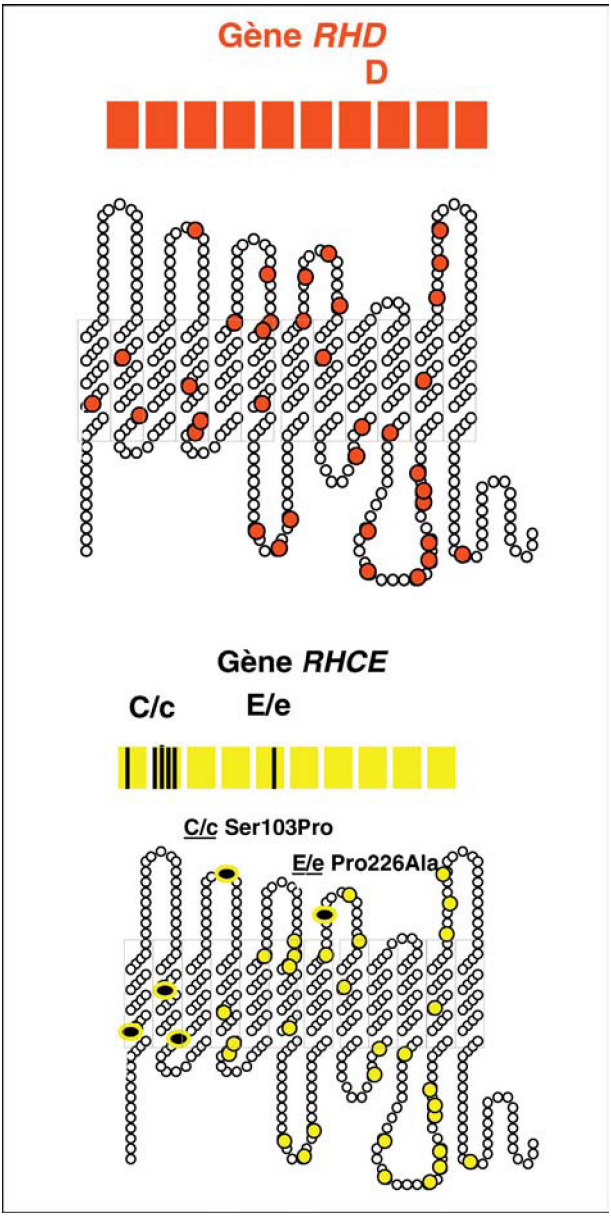


Figure 3.2. Les deux gènes du système Rhesus.

Tableau 3.8. Prévalence des phénotypes RH.

	Caucasiens	Afro-Antillais	Asiatiques
RH:1,2,–3,–4,5 (DCe)	42 %	17 %	70 %
RH:–1,2,–3,–4,5 (Ce)	2 %	2 %	2 %
RH:1,–2,3,4,–5 (DcE)	14 %	11 %	21 %
RH:–1,–2,3,4,–5 (cE)	1 %	0	0
RH:1,–2,–3,4,5 (Dce)	4 %	44 %	3 %
RH:–1,–2,–3,4,5 (ce)	37 %	26 %	3 %
RH:1,2,3,–4,–5 (DCE)	0	0	1 %
RH:–1,2,3,–4,–5 (CE)	0	0	0

D'après Reid ME, Lomas-Franci C. The Blood Group Antigen FactsBook. Elsevier Academic Press ; 2004.

et par le phénotype RH-KEL1. En cas de polymorphisme « bi-alléliques », les deux antigènes doivent être déterminés. En pratique courante, ce terme sous-entend la détermination des antigènes FY1, FY2, JK1, JK2, MNS3, MNS4.

Phénotypage érythrocytaire et ses limites

Le phénotypage érythrocytaire reste un *gold standard* de l'immunohématologie. Cependant, les limites de son utilisation sont atteintes en cas d'antécédents transfusionnels, de positivité du test direct à l'antiglobuline ou d'indisponibilité de réactifs commercialisés :

- on parle d'antécédents transfusionnels lorsqu'il y a eu transfusion de concentrés globulaires dans les 4 mois ayant précédé le prélèvement. En première intention, le phénotypage érythrocytaire FY, JK et MNS (phénotypage étendu) n'est pas réalisé, sauf pathologies particulières. Les patients sont transfusés avec des concentrés globulaires compatibles en termes de groupe sanguin ABO-RH1 et de phénotype RH-KEL1. Si les besoins transfusionnels du malade s'avèrent ensuite plus importants que ceux évalués avant toute transfusion, il est alors justifié de prévenir l'allo-immunisation vis-à-vis des systèmes de groupe sanguin FY, JK et MNS. Cependant, il ne sera pas possible de réaliser un phénotypage post-transfusionnel, les résultats de phénotypage pouvant correspondre à l'analyse des hématies du receveur et/ou de celle du donneur ;
- le deuxième cas où il n'est pas possible de réaliser un phénotypage érythrocytaire est lorsque le test direct à l'antiglobuline est positif de type IgG (exemple des maladies auto-immunes) et que la technique de phénotypage impose le recours au test indirect à l'antiglobuline (risque de faux positif) ;
- le troisième cas est en rapport avec l'indisponibilité de réactifs commercialisés. C'est l'exemple du système de groupe sanguin DO (Dombrock).

Dans ces trois situations, la détermination des antigènes érythrocytaires déduite de l'analyse des systèmes de groupe sanguin par des techniques de biologie moléculaire (génotypage) prend tout son intérêt.

Génotypage des systèmes de groupe sanguin KEL, FY, JK, MNS

Le principal mécanisme génétique impliqué dans la plupart des polymorphismes de groupe sanguin est le polymorphisme lié à un seul nucléotide, ou SNP (*Single Nucleotide Polymorphism*). C'est un type de polymorphisme de l'ADN dans lequel deux chromosomes diffèrent sur un segment donné par une seule paire de bases. La mise en évidence de ces SNP peut faire appel à différentes techniques telles que la PCR-RFLP, la PCR spécifique d'allèle et la PCR en temps réel.

En pratique courante, le génotypage des systèmes FY, JK et MNS est devenu, en quelques années, un outil indispensable dans les laboratoires d'immuno-hématologie spécialisés afin de répondre à la sécurité transfusionnelle en cas d'antécédents transfusionnels et/ou de test direct à l'antiglobuline positif de type IgG. L'analyse génétique de ces trois systèmes, avec détermination des allèles, permet de rendre un phénotype déduit du génotype sur les antigènes FY1 (Fy^a), FY2 (Fy^b), JK1 (Jk^a), JK2 (Jk^b), MNS3 (S) et MNS4 (s). Dans certains cas, il est nécessaire d'avoir des données sur le système KEL. L'analyse génétique permet alors de rendre un phénotype déduit du génotype sur les antigènes KEL1 (K), KEL2 (k).

Le développement des techniques de génotypage de systèmes de groupe sanguin dans les laboratoires de biologie médicale se heurte essentiellement à plusieurs problèmes : l'interprétation des données, l'existence de variants « silencieux » (risque de faux positif) ou de polymorphismes empêchant la mise en évidence d'un allèle (phénomène d'« *allele drop out* », responsable d'un faux négatif), la disponibilité de réactifs commercialisés. La génétique des groupes érythrocytaires met en jeu un ensemble, parfois complexe, de paramètres pouvant rendre difficile l'interprétation de résultats d'un génotypage. Les limites de l'utilisation de la biologie moléculaire sont illustrées, en immuno-hématologie, par la notion de « phénotype silencieux ». L'exemple est celui du système FY. Le polymorphisme antigénique FY1/FY2 (Fy^a/Fy^b) est codé par le polymorphisme génétique c.125G > A se situant dans l'exon 2 du gène *FY*. Si l'étude de la position 125 de l'exon 2 du gène *FY* met en évidence la présence du nucléotide A à l'état homozygote, la logique voudrait que le phénotype déduit du génotype soit FY:–1,2 [FY(a–b+)]. Cependant, il a été décrit chez les individus d'origine africaine/antillaise une mutation (c.–67t > c dans la région promotrice du gène *FY*), dont la présence empêche la transcription de l'allèle codant l'antigène FY2 (Fy^b). Aussi l'absence d'étude de la région promotrice du gène *FY* peut-elle amener à rendre des résultats de phénotype FY déduit du génotype faussement positif.

Le deuxième problème relatif au génotypage est l'existence de variants phénotypiques dans les systèmes de groupe sanguin. En l'absence de mises au point techniques ciblant des variants précis, les techniques classiques de génotypage ne sont pas à même d'identifier les variants.

Le dernier problème rencontré par les laboratoires d'immuno-hématologie a trait à la disponibilité de réactifs commercialisés. À l'heure actuelle, certains systèmes de groupes sanguins ne sont pas encore testés en routine sur les plateformes de génotypage (exemple des systèmes KN, JMH, RHAG, etc.).

Génotypage du système RH

Les antigènes du système RH sont codés par deux gènes, le gène *RHD* et le gène *RHCE*. *RHD* et *RHCE* sont des gènes homologues (96 % d'identité) étroitement liés, composés de dix exons de façon similaire. L'organisation « tête-bêche » de ces deux gènes facilite nombre de réarrangements géniques entre *RHD* et *RHCE*, à l'origine des variants RH identifiés à partir de leurs bases moléculaires. Le type et la fréquence des différents variants RH dépendent de la population étudiée. À l'occasion de la description d'un nouveau variant RH, il importe de répondre à trois questions : Existe-t-il un risque d'allo-immunisation anti-RH chez les individus porteurs de ce variant ? Quelle est la prévalence de ce variant dans la population de patients étudiés ? Quelle est la prévalence de ce variant chez les donneurs ? Ainsi, si le variant RH en question est associé à un risque d'allo-immunisation documenté et si sa prévalence chez les patients doit être prise en compte avec possibilité de prévention de l'allo-immunisation à partir de donneurs géno-compatibles, il faut que les techniques de génotypage de ce variant soient mises en place dans un laboratoire d'immuno-hématologie spécialisée.

Génotypage des autres systèmes de groupe sanguin

Le développement des techniques de biologie moléculaire vers le génotypage à haut débit donne la possibilité d'étudier des systèmes de groupe sanguin n'appartenant pas aux systèmes de groupe sanguin d'intérêt transfusionnel classiques : systèmes Colton, Luthéran, par exemple. L'intérêt d'utiliser ces techniques chez les transfusés et chez les donneurs reste à préciser selon les situations.

Choix des concentrés globulaires et compatibilité « immunologique »

Les concentrés globulaires sont sélectionnés afin d'obtenir une adéquation entre les données immuno-hématologiques du donneur et celles du receveur, l'objectif étant de ne pas apporter, par le biais transfusionnel, les antigènes

érythrocytaires absents chez le receveur et, surtout, de ne pas apporter l'antigène cible des anticorps antiérythrocytaires du receveur. Il importe donc de tenir compte de l'ensemble des examens immuno-hématologiques réalisés, à savoir la caractérisation du groupe ABO, du phénotype voire du génotype du receveur, la recherche et l'identification des anticorps antiérythrocytaires chez le receveur. La compatibilité « immunologique » sera confirmée par l'épreuve de compatibilité au laboratoire dans certaines circonstances (présence ou antériorité d'alloanticorps, patient polytransfusé).

Contrôle ultime prétransfusionnel

Par définition (décision du 6 novembre 2006 définissant les principes de bonnes pratiques prévus à l'article L. 1223-3 du Code de la santé publique), le contrôle ultime prétransfusionnel doit être réalisé en présence du malade. Il comporte deux étapes :

- le contrôle ultime de concordance entre l'identifiant du patient, l'identifiant du produit et des documents afférents à la délivrance ;
- le contrôle ultime de compatibilité ABO du patient et du produit pour les concentrés de globules rouges.

Cet acte médical est délégué à un(e) infirmier(ère) diplômé(e) d'État qui engage la responsabilité de ce(tte) dernier(ère) et celle du médecin responsable hiérarchique.

Conclusion

La sécurité transfusionnelle doit être l'objectif essentiel de toute personne impliquée dans l'acte transfusionnel, de sa prescription jusqu'à sa réalisation et à son suivi. Malgré nombre de mesures réglementaires, tant au niveau des donneurs que des receveurs, visant à maîtriser les risques liés à l'erreur humaine (erreurs d'identités, d'échantillons, de produits sanguins, etc.), l'analyse des données d'hémovigilance au niveau national (rapport annuel de l'ANSM) et international met en exergue l'importance d'une sensibilisation permanente du personnel de soins à ce problème. Sur le plan immuno-hématologique, il importe de maîtriser la fiabilité des analyses, le rendu, la compréhension et l'exploitation des résultats. Dans un avenir proche, il est probable que le concept de « compatibilité phénotypique » devra évoluer dans le sens d'une « compatibilité génotypique ». L'apport du génotypage à haut débit systématique des systèmes de groupe sanguin est encore en cours d'évaluation en termes de rapport coût/bénéfice, en particulier dans certaines populations de malades telles que les drépanocytaires. Seule une parfaite connaissance des données immuno-hématologiques phénotypiques et moléculaires des donneurs et des receveurs permettra de déterminer le périmètre véritable de la sécurité transfusionnelle.

3.4 Maladie hémolytique du nouveau-né

Appellation donnée aux manifestations à type d'anémie hémolytique néonatale, la maladie hémolytique du nouveau-né (MHNN) reste liée aux incompatibilités érythrocytaires fœtomaternelles (IFME), même si des causes non immunologiques émergent de plus en plus avec le développement de l'accès à des techniques spécialisées de diagnostic des autres maladies corpusculaires (ektacytométrie). Par ailleurs, ce terme de « maladie hémolytique du nouveau-né » est resté longtemps synonyme d'incompatibilité Rhésus, plus particulièrement Rhésus D (RH1), alors que la prophylaxie par immunoglobulines anti-RH1, mise en place dans les années 1970, a permis une raréfaction de cette étiologie de la MHNN. Si les incompatibilités ABO représentent la plus grande cause des maladies hémolytiques néonatales actuellement, les autres incompatibilités fœtomaternelles, plus rares, n'ont pas disparu : à côté des maladies rhésus de spécificité RH1 en voie de raréfaction, les incompatibilités RH3, RH4 et KEL1 prennent de l'importance. Le diagnostic et le pronostic des IFME reposent sur un dialogue multidisciplinaire organisé au sein de chaque établissement de santé entre les obstétriciens, les néonatologistes, les spécialistes de l'immuno-hématologie périnatale ainsi que les établissements de transfusion. En effet, de nombreux progrès ont révolutionné la prise en charge anténatale et postnatale des maladies hémolytiques néonatales secondaires aux IFME. La prise en charge néonatale débute dès la programmation de la naissance mais se poursuivra dans les premiers mois de vie postnatale.

Mais la MHNN qui résulte des IFME n'a pas disparu et l'immunisation maternelle à anti-D (RH1), qui était classiquement à l'origine des formes sévères néonatales, est détrônée aujourd'hui par d'autres immunisations.

Les principes de prise en charge par le pédiatre sont communs à toutes ces IFME et sont exposés dans cette section, depuis l'accueil en salle de naissance jusqu'à la clôture du suivi de l'hémolyse après plusieurs mois.

Définitions, étiologie et physiopathologie

Maladies hémolytiques néonatales d'origine immunologique : les incompatibilités érythrocytaires fœtomaternelles

Les incompatibilités fœtomaternelles érythrocytaires sont définies comme la présence, sur le globule rouge fœtal, d'alloanticorps maternels transmis *in utero*. Les cibles antigéniques de ces anticorps sont les antigènes érythrocytaires d'origine paternelle. Le conflit antigène-anticorps

induit la formation de complexes immuns (identifiés par test direct à l'antiglobuline), qui peut être à l'origine d'un syndrome hémolytique chez l'enfant dont la sévérité dépend de la spécificité du couple antigène-anticorps concerné et de l'importance de l'immunisation maternelle. Le syndrome hémolytique peut débuter *in utero* avec, dans sa forme la plus grave, apparition d'une anasarque fœtoplacentaire par anémie fœtale sévère. Il se manifeste toujours après la naissance (et pendant 3 mois) par une anémie hémolytique évolutive, avec hyperbilirubinémie précoce et sévère.

Parmi les 342 groupes sanguins répertoriés, environ 100 ont été impliqués dans les incompatibilités fœtomaternelles. À côté des antigènes privés (présents seulement chez quelques familles) ou publics (absents chez moins de deux sujets sur 1 000), les antigènes le plus fréquemment « symptomatiques » sont ceux des systèmes ABO, Rhésus, Kell, Duffy, Kidd et MNS. Les antigènes ABO sont des antigènes « rapportés », exprimés tardivement pendant la grossesse et aussi sur d'autres cellules que les hématies. En revanche, les autres antigènes cités sont des antigènes intégraux, produits directs des gènes des protéines membranaires. Ils sont spécifiques des hématies et exprimés pleinement dès la vie embryonnaire.

Les anticorps résultent d'une « hétéro-immunisation » anti-A ou anti-B, ou d'une allo-immunisation secondaire à une transfusion ou à une hémorragie fœtomaternelle : anti-RH1, anti-RH4, anti-KEL1, etc. (tableau 3.9). Certains (anti-MNS1, anti-RH3, anti-RH8, etc.) peuvent être d'origine naturelle.

Pour induire une incompatibilité fœtomaternelle et être qualifiés comme « à risque obstétrical ou fœtal », les anticorps doivent :

- être de type IgG, qui sont les seuls anticorps transmissibles par voie placentaire (de sous-classe IgG1 et IgG3, surtout *via* les récepteurs FcγRn) ;
- avoir une concentration circulante chez la mère suffisamment élevée ;
- avoir une affinité suffisante pour l'antigène ;
- être apte à activer, par leur région Fc, les récepteurs des macrophages.

Outre la quantité des anticorps dans la circulation maternelle, le flux de leur transfert fœtal associé à l'expression antigénique cible sur les globules rouges fœtaux qui augmentent avec l'âge gestationnel, conditionnent l'expression de la maladie hémolytique périnatale. La spécificité antigénique intervient donc dans la gravité de l'expression clinique (manifestations fœtales pour RH1, KEL1 et RH4, exceptionnelles avec RH3), mais aussi certaines caractéristiques des anticorps (sous-classe, par exemple) et des interactions entre systèmes immunitaires maternel et fœtal. Actuellement, ces dernières ne sont pas accessibles à des techniques d'exploration. Enfin, pour certaines incompatibilités fœtomaternelles érythrocytaires plus rares, voire de spécificité anti-privé ou anti-public, la prudence impose, en cas de titrage important (supérieur à 32 en technique de test indirect à l'antiglobuline en tube), de surveiller l'absence de retentissement fœtal et

Tableau 3.9. Alloanticorps et risque de maladie hémolytique.

Spécificité (nomenclature numérique)	Spécificité (nomenclature traditionnelle)	MHNN	Risque d'anémie fœtale ≤ 6 g/dl	Incidence des cas symptomatiques (pour 1 000 naissances)
Alloanticorps courants				
Anti-ABO1	Anti-A	Oui	Non	≈ 2
Anti-ABO2	Anti-B	Oui	Non	≈ 1
Anti-RH1	Anti-D	Oui	Oui (après 15 SA)	0,8
Anti-RH2	Anti-C	Oui	Non	< 0,1
Anti-RH3	Anti-E	Oui	Rare (3e trimestre)	0,1
Anti-RH4	Anti-c	Oui	Oui (après 20 SA)	0,1
Anti-RH5	Anti-e	Oui	Exceptionnel	< 0,1
Anti-RH8	Anti-C^w	Oui	Non	< 0,1
Anti-FY1	Anti-Fy^a	Oui	Exceptionnel	< 0,1
Anti-FY2	Anti-Fy^b	Oui	Non	< 0,1
Anti-RH12	Anti-G	Oui	Non	< 0,1
	Anti-H, HI (sujets A, B, AB)	Non	–	0
Anti-JK1	Anti-Jk^a	Oui	Exceptionnel	< 0,1
Anti-JK2	Anti-Jk^b	Oui	Non	< 0,1
Anti-KEL1	Anti-Kell	Oui	Oui (après 15 SA)	0,05
Anti-KEL3	Anti-Kp^a	Oui	Exceptionnel	< 0,1
Anti-LE1,LE2	Anti-Lewis	Non	–	0
Anti-LU1,LU2	Anti-Luthéran	Non	–	0
Anti-MNS1	Anti-M	Oui	Exceptionnel	< 0,1
Anti-MNS2	Anti-N	Non	–	0
	Anti-P1	Non	–	0
Anti-MNS3	Anti-S	Oui	Non	< 0,1
Anti-MNS4	Anti-s	Oui	Non	< 0,1
Alloanticorps publics				
Anti-MNS5	Anti-U	Oui	Exceptionnel	< 0,1
Anti-RH17,29,46	Anti-publics RH	Oui	Exceptionnel	< 0,1
Anti-KEL2,4,5,7	Anti-publics KEL	Oui	Exceptionnel	< 0,1
Alloanticorps				
	Auto-agglutinines	Non	–	0
	Autopapaïne	Non	–	0

SA, semaines d'aménorrhée.

néonatal de ces anticorps, même s'ils n'ont pas jusqu'alors été rapportés comme « dangereux ».

Sur le plan épidémiologique, en France, les incompatibilités fœtomaternelles anti-A et anti-B sont les plus fréquentes, puisqu'environ 5 % des nouveau-nés ont un test direct à l'antiglobuline positif relevant d'une incompatibilité fœtomaternelle érythrocytaire ABO pour 1 000 naissances, avec des manifestations presque exclusivement postnatales, puisque l'ontogénie des antigènes A et B est tardive. Les incompatibilités fœtomaternelles anti-RH1 restent les plus fréquentes des allo-immunisations, avec une incidence de 0,9 pour 1 000 naissances, symptomatiques dans 50 % des cas dont un quart de formes sévères à manifestations anténatales (50 % des cas) ; ces formes sévères sont rares, mais peuvent aboutir au décès *in utero* si elles sont négligées. Les autres incompatibilités représentent 0,5 pour 1 000 naissances, la moitié étant liée à une incompatibilité fœtomaternelle érythrocytaire RH4 ou RH3. Les incompatibilités fœtomaternelles érythrocytaires anti-KEL1 peuvent avoir une gravité aussi importante et aussi précoce pendant la grossesse que celle de l'incompatibilité RH1, avec une imprévisibilité plus grande.

Le développement d'anticorps dirigés contre les groupes sanguins chez une femme résulte de deux circonstances principales : la transfusion — même si cette circonstance est très rare en France — et la grossesse ; la toxicomanie et la greffe sont aussi des circonstances, mais exceptionnelles. Ces anticorps résultent d'une activation du système immunitaire maternel, après une première étape de sensibilisation par des hématies fœtales porteuses de caractéristiques paternelles, passées dans la circulation maternelle. Ces hémorragies fœtomaternelles sont spontanées (et, dans ce cas, occultes) ou provoquées (fausse couche, interruption volontaire de grossesse, mort fœtale *in utero*, accouchement, etc.). Le risque de développer des anticorps dépend de l'importance de l'hémorragie fœtomaternelle et de l'immunogénicité de l'antigène de groupe sanguin. Le plus immunogène est l'antigène RH1.

Les anticorps antiérythrocytaires synthétisés de type IgG traversent le placenta (après capture par les récepteurs Fc du syncytiotrophoblaste et transcytose) et se fixent sur les globules rouges fœtaux incompatibles. Ce phénomène est identifiable dès 10 à 12 semaines pour les incompatibilités fœtomaternelles de spécificité RH1, mais le taux fœtal d'IgG ne s'accroît progressivement qu'à partir du 4e mois.

Les immuns complexes des hématies se lient aux récepteurs FcγR des macrophages fœtaux spléniques qu'ils activent. Une destruction des hématies s'ensuit, par phagocytose ou lyse de contact. L'hémolyse croît avec la densité en immuns complexes, mais elle dépend aussi de la diversité de la région Fc des anticorps (définissant des sous-classes d'IgG) et de la réceptivité des macrophages fœtaux. L'immuno-hémolyse se complète

parfois d'une hypoplasie érythroïde, particulièrement lors de l'incompatibilité fœtomaternelle KEL1 : la réticulocytose et l'érythroblastose sanguine, mais aussi l'hyperbilirubinémie sont peu marquées au regard d'une anémie parfois extrême — interférence avec la différenciation érythropoïétique ?

Maladies hémolytiques néonatales non immunologiques

Elles correspondent aux hémolyses par anomalie du globule rouge et sont d'expression exceptionnellement anténatale : le diagnostic est évoqué le plus souvent chez un nouveau-né avec anémie et/ou ictère en l'absence de tout contexte d'incompatibilité. On distingue :

- les anomalies de la membrane : facilement évoquées devant un ictère précoce et rapidement évolutif, en l'absence de positivité du test direct à l'antiglobuline et avec des anomalies du frottis sanguin, parfois avec une histoire familiale d'anémie. Le frottis sanguin (et si possible l'ektacytométrie) permet le diagnostic du type d'anomalie : sphérocytose, pyknocytose, pyropoïkilocytose, elliptocytose, etc. ;
- les anomalies enzymatiques : elles sont évoquées devant un ictère précoce ou semi-tardif (4e ou 5e jour postnatal) rapidement évolutif et sévère, avec un test direct à l'antiglobuline négatif et aucune anomalie du frottis sanguin, mais une origine familiale à forte prévalence de ces anomalies. Pour le déficit en glucose-6-phosphate déshydrogénase, le plus fréquent, il s'agit de l'Afrique et des Antilles et, dans la mesure où il s'agit d'une pathologie autosomique récessive liée à l'X, la MHNN touche classiquement presque exclusivement les garçons, mais des formes très sévères sont régulièrement rapportées chez les sujets féminins. Pour le déficit en pyruvate kinase, la prévalence est plus forte en Asie et la transmission est autosomique récessive. Dans les deux cas, le diagnostic repose sur le dosage de l'activité enzymatique du globule rouge concerné ;
- les hémoglobinopathies : elles ne se manifestent pas dans cette période de la vie, sauf les alphathalassémies majeures, qui peuvent même s'exprimer dès la vie fœtale et induire des anasarques. Elle correspond à la délétion des quatre gènes de l'alphaglobine sur le chromosome 16 et touche préférentiellement les populations d'Asie du Sud-Est, mais aussi d'Inde, du Moyen-Orient et de la Méditerranée. Les globules rouges sont très microcytaires et hypochromes.

Diagnostic clinique

À côté du classique tableau de la MHNN avec un nouveau-né jaune et pâle, les circonstances de diagnostic des maladies hémolytiques néonatales restent très variées et l'expression des incompatibilités fœtomaternelles

érythrocytaires (IFME) tant en période prénatale que postnatale a beaucoup changé dans les trente dernières années du fait de la généralisation de la prévention rhésus, de la prise en charge anténatale avec, en particulier, le développement du diagnostic non invasif d'anémie fœtale par vélocimétrie Doppler et des transfusions fœtales.

Femme avec RAI positives pendant la grossesse

Immunisation dépistée en début ou en cours de grossesse en application du calendrier réglementaire des RAI chez la femme enceinte

Une incompatibilité fœtomaternelle érythrocytaire peut s'exprimer sous la forme d'une anémie dès la période fœtale si l'anticorps est considéré comme « à risque obstétrical ou fœtal » (cf. *supra*). Toute immunisation à anticorps « à risque fœtal » impose un suivi à intervalle régulier (en principe mensuel ou bimensuel) de la quantification des anticorps par titrage et dosage pondéral dès la fin du premier trimestre. En effet l'immunisation va évoluer au cours de la grossesse avec une fréquente activation à compter de 28-32 semaines et parfois des activations brutales et imprévisibles. Il n'existe pas de corrélation étroite entre la quantité d'anticorps (titrage et dosage pondéral) et la survenue d'une anémie mais plutôt des taux critiques d'anticorps qui signent un « risque d'anémie fœtale ». Ces valeurs une fois atteintes indiquent la mise en place d'une surveillance obstétricale et par échographie-Doppler rapprochée afin de dépister une éventuelle anémie fœtale le plus précocement possible. Les anémies fœtales sont prioritairement liées aux immunisations Rhésus D (RH1) et Kell (qui peuvent être découvertes à cette occasion). L'anémie fœtale peut alors se manifester dès le second trimestre. Une anémie fœtale est plus rare dans les immunisations RH4 (petit c) et RH3 (E) et dans ces cas, rarement avant le troisième trimestre. Rappelons que la prudence est de mise devant des anticorps plus rares surtout quand ils sont présents à des taux élevés ; pendant une grossesse, ils doivent faire surveiller le risque d'anémie fœtale (cf. *supra*).

Le diagnostic d'anémie fœtale est tardif s'il est exclusivement fondé sur les signes échographiques à type d'épanchement liquidien voire d'anasarque. En effet, l'anémie fœtale des incompatibilités érythrocytaires est progressive, mais la décroissance de l'hémoglobine a une cinétique très variable et, dans les incompatibilités RH1 et KEL1, elle peut s'aggraver en quelques jours de façon totalement imprévisible. De plus, ce n'est que lorsque l'anémie dépasse les capacités de réaction du fœtus et devient mal tolérée qu'elle se complique d'épanchements liquidiens (pleuraux, péricardiques ou péritonéaux) par insuffisance cardiaque anoxique ; elle constitue, à un stade ultime, un tableau d'anasarque.

Depuis les années 2000, la mesure, par Doppler, du pic systolique de vélocité dans l'artère cérébrale moyenne du fœtus s'est imposée comme un moyen de diagnostic précoce d'anémie fœtale, de surcroît non invasif. L'augmentation de vitesse, liée principalement à la diminution de la viscosité sanguine, est très bien corrélée au taux d'hémoglobine fœtale. Sous réserve de conditions techniques optimales (figure 3.3), cette approche permet de limiter le recours aux gestes invasifs (ponction de sang fœtal en particulier), de surveiller une grossesse avec immunisation et de décider le moment optimal de la première transfusion *in utero* lorsqu'elle est nécessaire. Une mesure dépassant 1,5 fois la médiane pour un terme donné a une valeur prédictive positive proche de 98 % d'une anémie fœtale inférieure ou égale à 8 g/dl et ce, bien souvent, sans signe à l'échographie morphologique. La surveillance Doppler de l'artère cérébrale moyenne (PSV-ACM) permet d'éliminer les anémies fœtales avec hémoglobine (Hb) inférieure à 8-9 g/dl qui risquent de compromettre l'adaptation néonatale mais pas les anémies modérées et encore moins les hyperbilirubinémies néonatales secondaires à l'hémolyse donc précoces et rapidement évolutives.

On mentionnera pour mémoire le classique « indice de Liley » qui est une détermination de la « bilirubinamnie » (témoin indirect de l'intensité de l'hémolyse) par index optique du liquide amniotique à 450 nM, qui était utilisé pour donner un risque d'anémie par comparaison entre les valeurs obtenues et les normes connues pour l'âge gestationnel : cette méthode

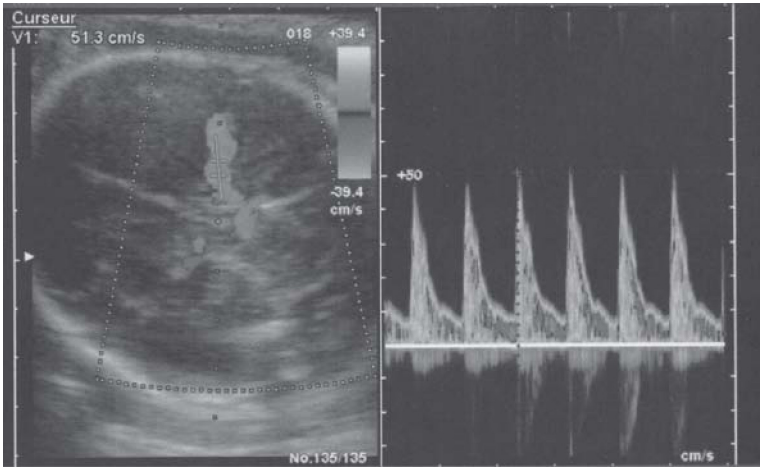


Figure 3.3. Mode de mesure du pic systolique de vélocité dans l'artère cérébrale moyenne.
Axe de tir Doppler bien dans l'axe du vaisseau, mesure dans le tiers proximal/tiers moyen de l'artère, absence d'utilisation de la molette de correction d'angle, pas de pression sur la tête fœtale.

invasive impose une ponction de liquide amniotique et donne des informations très imprécises sur la profondeur de l'anémie. Son usage a disparu du fait du développement de la vélocimétrie Doppler.

Pour les immunisations connues, la naissance est programmée autour de 37 SA pour éviter le transfert accru d'anticorps en fin de grossesse (activation-immunisation fréquente et perméabilité placentaire augmentée) quand le risque d'immaturité pulmonaire diminue ; ceci en concertation avec l'équipe pédiatrique qui prendra en charge l'enfant et ses besoins spécifiques — les capacités locales doivent offrir au minimum une photothérapie intensive continue et une disponibilité des produits sanguins labiles PSL compatibles pour l'enfant — mais aussi avec les anesthésistes et l'établissement transfusionnel qui mettra à disposition des PSL compatibilisés pour la mère et l'enfant.

Immunisations connues et sévères ayant motivé une thérapeutique transfusionnelle fœtale

Après deux à trois transfusions pendant la vie fœtale, la MHNN est atténuée (disparition des globules rouges recouverts d'anticorps limitant l'hémolyse néonatale). Quand les équipes impliquées dans la prise en charge anté- et postnatale sont différentes, celle qui va prendre en charge le nouveau-né devrait disposer des documents immuno-hématologiques (IH) disponibles tant pour la mère que pour le fœtus afin de sécuriser une thérapeutique transfusionnelle postnatale.

Immunisation dépistée sur RAI du 8e mois ou en salle d'accouchement

L'identification de l'anticorps responsable et sa quantification sont urgentes car conditionnent la prise en charge de la mère et de l'enfant, avec anticipation de la thérapeutique transfusionnelle (mère et enfant) et celle de l'hyperbilirubinémie précoce.

Découverte d'une anémie fœtale par échographies obstétricales systématiques du deuxième ou du troisième trimestre

Circonstance assez fréquente de découverte d'une anémie fœtale, elle impose une démarche diagnostique rigoureuse et une prise en charge spécialisée urgente (figure 3.4). Les incompatibilités fœtomaternelles érythrocytaires sont la cause la plus fréquente et parfois découvertes dans ces circonstances (en particulier si le calendrier des RAI n'est pas respecté) mais d'autres causes existent comme les causes virales, les dyérythropoïèses, les hémorragies fœtomaternelles.

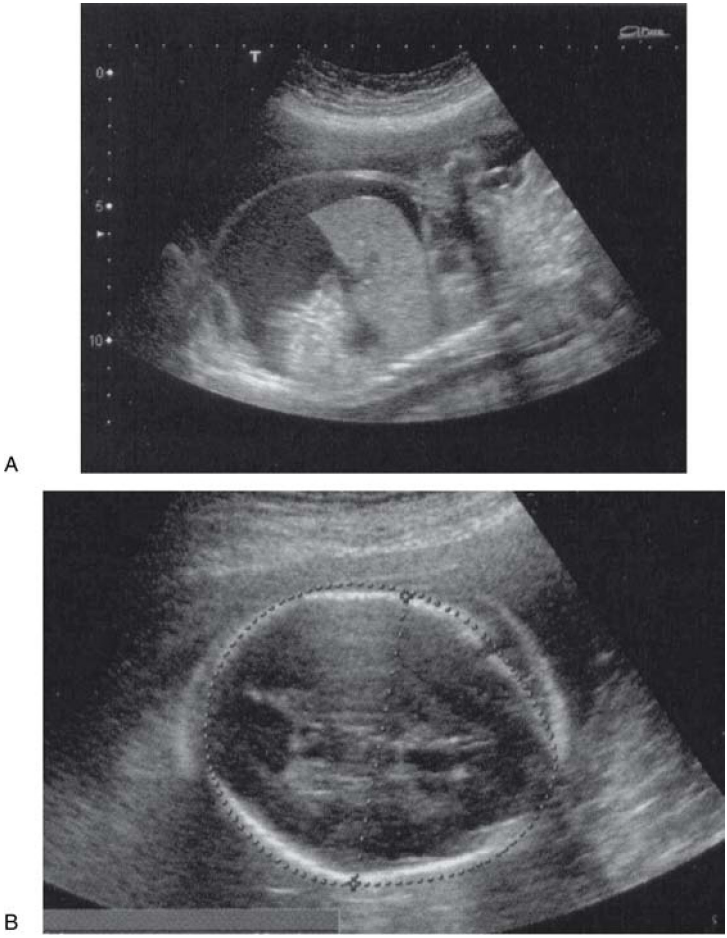


Figure 3. 4. Images d'anasarque, avec ascite à gauche et œdème préfrontal sous-cutané à droite.

Future mère avec RAI négative mais de groupe sanguin O avec antécédent d'un enfant ayant présenté une MHNN sévère

Le nouveau-né d'une mère de groupe O qui à l'interrogatoire rapporte une exsanguino-transfusion ou une photothérapie avant 24 heures de vie dans la fratrie doit bénéficier du même accueil qu'un nouveau-né de femme à RAI positive — si l'hémolyse est plus fréquente avec les anti-A qu'avec les anti-B, la sévérité de la MHNN ABO apparaît majorée avec les anti-B et dans

les familles originaires d'Afrique subsaharienne avec même des cas d'anémie fœtale.

Anomalies du rythme cardiaque fœtal (ARCF)

Le rythme sinusoïdal est pathognomonique d'une anémie fœtale profonde qui va indiquer une extraction urgente de l'enfant. Ceci impose de disposer en salle de naissance d'un concentré de globules rouges (CGR).

Dans l'urgence et selon les bonnes pratiques transfusionnelles, on sélectionnera un CGR de groupe O, en respectant les RAI de la mère. En cas d'immunisation anti-RH4 ou si la mère est de groupe RH:1 et qu'une immunisation anti-RH4 ne peut être exclue, il convient de ne pas sélectionner dans un dépôt d'urgence un CGR O de groupe RH:–1 dont le phénotype sera RH4 positif donc incompatible et cible des anticorps maternels transmis.

Nouveau-né avec signes évocateurs d'hémolyse

Ictère et pâleur sont les signes cliniques classiques.

Dans les formes les plus sévères, une anasarque avec hépatosplénomégalie voire des foyers d'érythroblastose cutanée (nodules bleutés) sont au premier plan.

L'ictère cutané n'est pas toujours « visible » à la naissance mais une coloration jaune franche de la gelée du cordon ombilical valide une bilirubinémie de 70 μmol/l au moins (données CNRHP), toujours pathologique à cet âge. La détermination extemporanée de l'Hb par HémoCue® (disponible dans tout bloc opératoire) offre un résultat rapide et fiable.

Le signe principal est l'ictère, témoignant de l'hyperbilirubinémie secondaire à l'immuno-hémolyse : il est par conséquent précoce (parfois dès la naissance et toujours dans les 72 premières heures de vie) et rapidement évolutif, dans la mesure où les capacités d'élimination de la bilirubine libre formée par le nouveau-né sont relativement faibles pendant les sept premiers jours de vie, se mettant en place à partir de la naissance seulement, puisqu'en anténatal, toute bilirubine formée est éliminée par l'organisme maternel. Cette bilirubine libérée par la lyse des globules rouges est liposoluble, donc potentiellement neurotoxique, en cas d'accumulation dans le premier mois de vie. Pour un taux de bilirubine libre dépassant 340 μmol/l, les mécanismes de protection du cerveau peuvent être dépassés, autorisant la fixation irréversible de la bilirubine sur les noyaux gris centraux, à l'origine de séquelles motrices (syndrome extrapyramidal) et sensorielles (surdité centrale), voire de décès. Ces complications correspondent à l'« ictère nucléaire ». Ce seuil de toxicité est bien inférieur chez un enfant né prématurément ou ayant présenté des difficultés d'adaptation (acidose, infection).

Une pâleur souvent associée témoigne de l'anémie par destruction des globules rouges, mais elle peut ne pas être présente d'emblée et apparaître

dans la première semaine. L'anémie secondaire à une hémolyse est de type régénératif, avec anisocytose, sphérocytose et érythroblastose franche (dépassant 100 000/mm^3). Une hépatosplénomégalie d'importance variable (parfois jusqu'en fosse iliaque) doit être recherchée, car elle est presque toujours présente : ces deux organes sont les lieux de destruction des globules rouges, mais aussi ceux de l'érythropoïèse réactionnelle chez le fœtus et le nouveau-né.

Dans certains cas, le tableau de MHNN apparaît « dissocié » avec de façon isolée une anémie sévère (presque toujours avec les IFME Kell et parfois dans les IFME ABO) ou une hyperbilirubinémie dépassant 100 µmol/l au cordon ou 350 µmol/l dans les 48 premières heures de vie (souvent dans les IFME ABO).

Ictère et/ou pâleur font évoquer une MHNN et imposent d'associer dans le même temps la démarche thérapeutique et diagnostique du fait de l'évolutivité de l'hémolyse et des symptômes. L'examen clinique initial et le bilan sanguin précoce permettent de caractériser la gravité de la MHNN et guider la prise en charge. Si une transfusion est urgente, elle sera précédée dans tous les cas de prélèvements à visée étiologique comportant au minimum NFS et réticulocytes, test direct à l'antiglobuline (TDA) et groupe sanguin (GS), bilirubine totale et conjuguée.

Tant que persiste le conflit antigène-anticorps à l'origine de l'hémolyse, cette dernière se poursuit : anomalie corpusculaire persistant à vie ou anticorps maternels présents pendant plusieurs mois dans l'organisme de l'enfant (classiquement 3 mois).

L'hyperbilirubinémie (donc l'ictère) peut rester sévère de façon prolongée, au-delà de la première semaine — âge auquel l'ictère néonatal lié à un simple retard de conjugaison régresse — ; un autre profil évolutif de l'ictère doit attirer l'attention, qui est la survenue de récurrences à l'arrêt du traitement par photothérapie (rebonds parfois intenses d'hyperbilirubinémie). La démarche doit être rigoureuse face à tout ictère récidivant ou prolongé, afin de préciser une étiologie qui aura parfois des conséquences, tant chez le nouveau-né que pour sa famille.

L'anémie est, elle aussi, évolutive et parfois récurrente après transfusion. Dans les incompatibilités, l'hémogramme doit donc être surveillé plusieurs mois, jusqu'à certitude d'une hématopoïèse efficiente et autonome. Dans les anémies d'origine corpusculaire, l'enquête familiale doit être systématique.

Diagnostic biologique

Chez le nouveau-né

Numération et formule sanguine

Une anémie est fréquemment présente dès la naissance et doit être recherchée d'emblée devant des signes cliniques de MHNN. Le taux

d'hémoglobine au cordon est souvent inférieur à celui dosé quelques heures plus tard dans le sang périphérique, mais donne une bonne information pour orienter la prise en charge immédiate. À la naissance, dans la MHNN, l'hémoglobine aurait des valeurs égales ou inférieures à 14,5 g/dl dans la moitié des incompatibilités. L'anémie de la MHNN est une anémie par hémolyse chronique qui se poursuit tant que la réaction hématopoïétique intrinsèque ne dépasse pas l'importance de la lyse par conflit antigène-anticorps. Ce qui impose une surveillance de l'hémogramme de plusieurs mois dans les incompatibilités — les anticorps maternels transmis peuvent être retrouvés jusqu'à 6 mois après la naissance.

Il s'agit d'une anémie régénérative avec, à la naissance et pendant moins d'une semaine, des taux de réticulocytes de 30 à 40 % chez les enfants n'ayant pas été transfusés *in utero*. La présence de nombreuses cellules rouges nucléées peut induire une fausse hyperleucocytose au comptage cellulaire automatisé, qui devra être rectifiée. Lorsque les enfants ont été transfusés *in utero* ou en postnatal, voire exsanguinés, ils présentent à la naissance une anémie arégénérative.

Le frottis sanguin, à la recherche de signes d'hémolyse, doit être demandé chez tous les nouveau-nés présentant un ictère sévère ou précoce ou prolongé. Il est particulièrement informatif dans l'orientation diagnostique en cas d'hémolyse non immunologique (sphérocytose, etc.). En cas d'hémolyse immunologique et en l'absence de thérapeutique transfusionnelle, on observe, dans les incompatibilités Rhésus, une anisocytose marquée avec beaucoup de macrocytes et une discrète poïkilocytose et, dans les incompatibilités ABO, un aspect de sphérocytose plus fréquent, pouvant mimer certaines pathologies membranaires du globule rouge.

Dosage de bilirubine plasmatique

L'hyperbilirubinémie de la MHNN concerne la bilirubine libre, liposoluble et produite par une hémolyse excessive dépassant les capacités déjà réduites de métabolisme hépatique et d'excrétion du nouveau-né. Dans certains cas d'incompatibilités ABO ou Rhésus, où l'hémolyse anténatale est associée à une souffrance hépatique, souvent par anoxie tissulaire transitoire (anémie du *per-partum*) ou chronique (retard de croissance), un certain degré de cholestase peut être observé, se manifestant par une bilirubine directe ou conjuguée dépassant 25 μmol/l. Dans la majorité des cas, ce phénomène est résolutif en 8 à 10 jours ; sinon, il impose sans délai la recherche d'une atrésie des voies biliaires. Il a aussi été décrit dans les anomalies membranaires du globule rouge.

Chez environ un tiers des nouveau-nés à terme avec une MHNN secondaire à une incompatibilité ABO, il n'y a pas d'ictère, mais une anémie isolée, avec un test direct à l'antiglobuline positif. Cette anémie est peu évolutive en postnatal, mais peut être mal tolérée car s'étant constituée en

fin de grossesse et pouvant gêner l'adaptation de l'organisme, imposant alors une transfusion précoce.

Dans une MHNN suspectée sur des signes fœtaux, le dosage de bilirubine peut être effectué sur le sang du cordon. On réalise un dosage de bilirubine totale et conjuguée, et on en déduit le taux de bilirubine libre : si le taux de bilirubine libre au cordon atteint ou dépasse 60 μmol/l, un traitement est aussitôt débuté, avec une efficacité contrôlée pour limiter la progression de l'hyperbilirubinémie.

La surveillance de l'ictère chez tout nouveau-né suspect de MHNN doit être précoce (dès la salle de naissance) et rapprochée (toutes les 6 heures dans les incompatibilités) dans les trois premiers jours, et prolongée pendant les dix premiers jours de vie, car l'hémolyse reste évolutive même après la sortie de maternité et la thérapeutique (photothérapie) est symptomatique.

Positivité du test direct à l'antiglobuline, ou test de Coombs direct (TDA)

Ce test met en évidence les anticorps non agglutinants fixés sur les globules rouges. Si le plasma maternel contient des anticorps de type IgG dirigés contre un antigène porté par les globules rouges fœtaux, le passage placentaire des anticorps permet la fixation des anticorps sur les hématies, résultant en un test direct à l'antiglobuline positif. Le TDA peut être réalisé sur le sang du cordon pour orienter le raisonnement en cas d'ictère ou d'anémie découverts en salle de naissance pour confirmer un diagnostic d'incompatibilité. Le test direct à l'antiglobuline a une sensibilité variable suivant les laboratoires, et une mauvaise valeur prédictive d'un ictère pathologique, sauf, semble-t-il, en cas de forte positivité (4 croix). Un test positif doit faire réaliser une élution, qui permettra d'identifier l'anticorps présent et transmis par la mère.

La cause la plus fréquente de la positivité du test chez le nouveau-né est de loin l'incompatibilité ABO, puisque 60 % des enfants de groupe A ou B, de mère O, naissent avec un test direct à l'antiglobuline positif. Il est à noter pourtant que seulement 5 % des nouveau-nés A ou B, de mère O, exprimeront cliniquement une MHNN.

Le titrage des anticorps IgG anti-A et anti-B chez la mère permet le diagnostic de confirmation d'une maladie hémolytique ABO ou d'exclure la responsabilité d'une incompatibilité ABO dans le diagnostic d'un ictère sévère chez un enfant A ou B de mère O.

Enfin, chez les nouveau-nés de mère ayant reçu une immunoprophylaxie par anti-D dans le troisième trimestre, le test est retrouvé positif chez 10 à 15 % d'entre eux. Ces anti-RH1 n'ont aucun impact hémolytique chez le fœtus, ni chez le nouveau-né. En cas de contexte d'incompatibilité ABO ajoutée potentielle, il convient de surveiller les signes de MHNN, en sachant que les anti-RH1 passifs transmis vont sensibiliser la positivité du test direct à l'antiglobuline.

Groupe sanguin

Sa détermination permet de dépister des situations d'incompatibilité fœto-maternelle érythrocytaire ABO et, en cas de test direct à l'antiglobuline négatif, avec symptomatologie clinique de MHNN, dans un contexte de différence de groupe ABO mère-enfant, une élution doit être demandée à la recherche d'anticorps circulants, du fait du défaut de sensibilité du test direct à l'antiglobuline dans ce contexte.

Disposer du groupe sanguin phénotypé permet de confirmer le diagnostic d'incompatibilité fœtomaternelle érythrocytaire.

Pendant la grossesse

Le dépistage prénatal des anticorps antiérythrocytaires par « recherche d'agglutinines irrégulières » ou RAI a un calendrier établi par l'HAS dans les recommandations *Suivi de la femme enceinte*. La RAI est effectuée dès le premier trimestre chez toutes les femmes enceintes quels que soient leurs groupes sanguins. Négative, la RAI est répétée au 6e (avant l'injection d'immunoglobulines anti-Rh), 8e et 9e mois chez les femmes RH:–1 ou à antécédents transfusionnels. Chez les femmes sans antécédents transfusionnels, la RAI sera répétée au 8e-9e mois seulement. À noter qu'à l'entrée en salle de naissance un contrôle de RAI est souvent demandé en « prévision » d'une éventuelle transfusion, l'accouchement étant la circonstance la plus à risque d'hémorragie dans la vie d'une femme. À noter que si la RAI en salle de naissance est à visée transfusionnelle maternelle, celle du 8e-9e mois a aussi un intérêt fœtal car une immunisation à risque fœtal peut apparaître au cours des deuxième et troisième trimestres. Une RAI positive impose l'identification de l'anticorps, aussi bien chez la femme RH:1 que chez la femme RH:–1. La spécificité de l'anticorps et son titre (voire son dosage) indiquent alors s'il y a un risque fœtal (figure 3.5). Le diagnostic d'incompatibilité est exclu si le père biologique ne possède pas l'antigène cible. Dans tous les autres cas, le fœtus est présumé incompatible, seul le génotypage du groupe sanguin fœtal permettra le diagnostic d'incompatibilité fœtomaternelle. L'amniocentèse pour génotypage fœtal *KELL*, *RHc* et *RHE* peut être indiquée en cas d'immunisation très sévère mais désormais des techniques de génotypage non invasif (sur plasma maternel) sont validées pour les gènes *KELL* et *RHc*. Le diagnostic direct non invasif du génotype *RHD* fœtal est aujourd'hui possible à partir de 12 SA et 15 SA pour le *KELL*. Ils sont cependant réalisables uniquement dans les laboratoires autorisés à la pratique du diagnostic génétique prénatal, sous la responsabilité de praticiens agréés. En cas de négativité du génotypage *RHD* ou *KELL* fœtal, confirmée sur deux prélèvements espacés d'une à quelques semaines, le risque d'anémie fœtale est écarté, quelle que soit la sévérité de l'allo-immunisation. La grossesse pourra dès lors être surveillée de manière

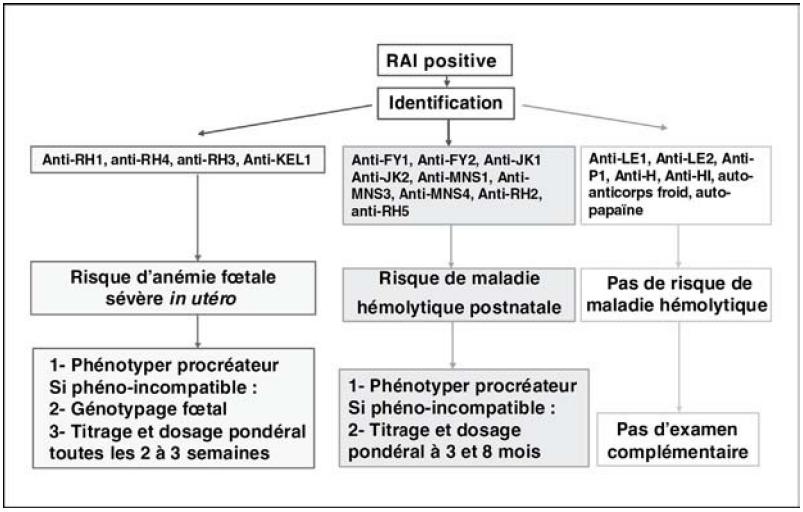


Figure 3.5. Dépistage et surveillance des incompatibilités fœtomaternelles au cours de la grossesse (alloanticorps communs).

habituelle et ne nécessitera pas de prise en charge spécialisée, ni biologique, ni obstétricale.

Il existe un lien entre le taux des anticorps maternels et le risque hémolytique encouru par le fœtus incompatible mais pas de relation directe : les taux d'anticorps sont plus à interpréter en « valeur seuil » et selon leur cinétique au cours de la grossesse. Les valeurs sont aussi à interpréter en fonction du terme de grossesse (tableau 3.10), le taux des anticorps et son évolution conditionnant les modalités de prise en charge obstétricale. Le titre et le dosage des anticorps permettent de définir des valeurs seuils critiques d'alerte, au-delà desquelles un suivi anténatal spécifique doit être déclenché. Ces taux peuvent être d'emblée inquiétants ou initialement rassurants et le rester. Le taux d'anticorps peut enfin s'élever brutalement, d'où la nécessité de le mesurer à intervalles réguliers (de 1 à 4 semaines, selon le taux initial et l'âge gestationnel) (figure 3.6).

Tout anticorps anti-RH1 est à doser, y compris lorsqu'on suppose, à tort ou à raison, qu'il s'agit d'un anti-RH1 passif après une injection d'immunoglobulines anti-Rh ; on évite ainsi de méconnaître une immunisation associée, dont l'évolution peut être fatale. Pour des anti-RH1 dont le titre, en technique indirecte à l'antiglobuline en tube, est inférieur au 1/4, la technique de microtitrage est préconisée. Elle consiste à tester des dilutions du sérum ou plasma de la patiente, ainsi que des dilutions d'un standard anti-RH1. La concentration trouvée en anti-RH1 est ensuite comparée à la concentration théorique, calculée à partir de la date et de la dose d'immunoglobulines

Tableau 3.10. Taux « critiques » des anti-RH1, anti-KEL1, anti-RH4, anti-RH3, en fonction de l'âge gestationnel.

Anti-RH1	Dosage pondéral (titre au moins égal au 1/16e)	4 µg/ml (1 000 U CHP)	3 µg/ml (750 U CHP)	2 µg/ml (500 U CHP)	1 µg/ml (250 U CHP)	0,7 µg/ml (175 U CHP)
Anti-KEL1	Titre*	> 1/128	1/128	1/64	1/16	1/16
Anti-RH4 Anti-RH3	Dosage pondéral** (titre au moins égal à 1/4)	3 000 U CHP/ml	1 500 U CHP/ml	1 000 U CHP/ml	750 U CHP/ml	500 U CHP/ml
Semaines d'aménorrhée		18	24	28	32	36
En situation d'incompatibilité, le risque d'anémie fœtale sévère dépend du taux de l'anticorps et de l'âge gestationnel. Par exemple, un anti-RH1 dosant 1 µg/ml expose un fœtus RH1 positif à un risque d'anémie sévère seulement à partir de 7 mois de grossesse (32e semaine d'aménorrhée). Pour un taux de 4 µg/ml, le risque apparaît dès 18 semaines.						

CHP : Centre d'hémobiologie périnatale.
* Test indirect à l'antiglobuline, hématies test normales, lecture macroscopique des agglutinats.
** Seul l'anti-RH1 est couramment exprimé en µg/ml (1 µg = 5 UI = 250 U CHP).

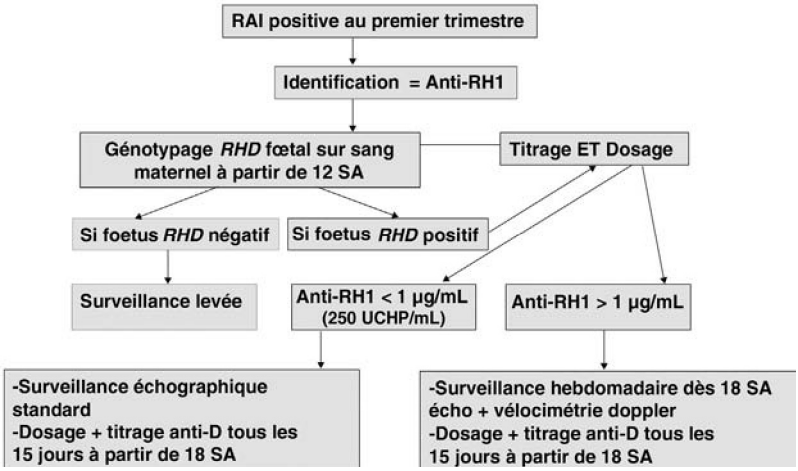


Figure 3.6. Schéma de prise en charge de grossesse avec allo-immunisation anti-RH1.

anti-Rh injectée. Pour des titres supérieurs au 1/4, on a recours au dosage pondéral, qui offre une appréciation précise de la concentration. Pour les anti-RH4, le dosage est aussi recommandé car beaucoup mieux correlé à l'expression clinique de la maladie hémolytique néonatale que le simple titrage (expérience CNRHP).

Prise en charge thérapeutique

Prévention

Seules les MHNN secondaires aux incompatibilités de spécificité RH1 peuvent bénéficier d'une prévention par le biais de l'immunoprophylaxie par immunoglobulines anti-RH1. Celle-ci repose sur deux volets : l'identification des femmes RH:–1 en âge de procréer et leur information ; l'injection, chez une femme enceinte d'un fœtus RH:1, de doses adaptées d'immunoglobulines anti-Rh d'origine plasmatique pour prévenir une immunisation possible en cas de situation à risque d'hémorragie fœtomaternelle.

On distingue deux types d'indication de l'immunoprophylaxie par immunoglobulines anti-Rh :

- les indications ciblées, qui ont longtemps été les seules en France, et ce de façon quasi-exclusive par comparaison avec la plupart des pays d'Europe et d'Amérique du Nord. Ces indications sont elles-mêmes subdivisées en situation à fort risque d'hémorragie fœtomaternelle et en situation à faible risque ;
- l'indication dite « systématique », qui vise à prévenir les hémorragies fœtomaternelles occultes, dont on sait qu'elles concernent jusqu'à 45 % des femmes enceintes au troisième trimestre. Cette indication a fait l'objet, en 2006, d'une actualisation des recommandations professionnelles concernant l'immunoprophylaxie. À 4 ans de la publication des recommandations, l'application de cette prophylaxie systématique concernait seulement 60 % des femmes en France, et est en constante progression chaque année.

Seule la prophylaxie ciblée nécessite un calcul et une adaptation de la dose d'immunoglobulines anti-Rh à l'importance de l'hémorragie fœtomaternelle, par la technique classique de Kleihauer ou par d'autres dérivées par cytométrie de flux. La base de calcul est la suivante : pour avoir une efficacité de 100 %, il y a nécessité d'un apport d'immunoglobulines anti-RH1 supérieur ou égal à 20 mg/ml d'hématies fœtales RH:1.

La prophylaxie par immunoglobulines anti-Rh est une proposition de traitement nécessitant une information de la femme sur son groupe RH1 négatif. Par ailleurs, une information sur le produit est obligatoire avant chaque injection, en respect de la circulaire sur les médicaments dérivés du sang et la traçabilité de ceux-ci. Enfin, toute injection d'immunoglobulines anti-Rh fait l'objet d'une traçabilité double : par le pharmacien qui délivre le produit et sur le dossier de la patiente.

Il est à noter que la prévention des maladies hémolytiques par anti-KEL1, anti-RH2, anti-RH3, anti-RH4 repose exclusivement sur la sélection des produits à transfuser chez toute femme dont l'état médical le justifie (incluant les nouveau-nés de sexe féminin), dans le respect du phénotype RH-KEL (arrêté du 26 avril 2002). Ceci devrait permettre la disparition des maladies hémolytiques néonatales lors des premières grossesses.

Traitement curatif de la MHNN

En l'absence de diagnostic précoce et de prise en charge rapide, la MHNN fait courir deux risques : celui d'anémie sévère entre 3 mois d'âge post-conceptionnel et 3 mois d'âge postnatal, et celui d'encéphalopathie hyperbilirubinémique aiguë ou chronique (ictère nucléaire), après la naissance.

Maladie hémolytique fœtale

La prise en charge thérapeutique se résume en un acte transfusionnel visant à corriger l'anémie fœtale. En effet, les échanges plasmatiques maternels visant à diminuer la concentration en anticorps maternels circulant sont grevés de complications maternelles graves et non rares, et aussi de la nécessité de les répéter plusieurs fois par semaine, très tôt dès le premier trimestre. Tout cela les a fait abandonner. Une autre thérapeutique peut être proposée dans de rares cas d'immunisations très sévères, faisant craindre une anémie fœtale sévère à un terme précoce : elle consiste en l'administration, à la mère, de fortes doses d'immunoglobulines intraveineuses (1 g/kg) de façon hebdomadaire, en vue de réduire le taux d'anticorps circulant et surtout de retarder l'apparition d'une anémie. L'efficacité des IgIV dans cette indication n'est pas systématique, amenant le CNRHP à poser les indications dans les formes les plus graves avec antécédents de décès fœtal ou d'anémie avant 20 SA.

Un geste transfusionnel permet, par correction de l'anémie fœtale, de prolonger la grossesse et d'éviter une naissance prématurée — qui a longtemps été le seul recours pour tenter de sauver un fœtus en état d'anémie : l'adaptation néonatale était évidemment compromise, avec une morbidité et une mortalité dues à la prématurité associée à une hypoxie et une ischémie tissulaire. Le geste transfusionnel peut être réalisé par abord de la veine ombilicale au niveau du cordon (préférentiellement au niveau de l'insertion choriale) et être de type transfusion simple ou de type exsanguino-transfusion en concentré érythrocytaire, visant à « épurer » les anticorps de façon plus rapide. L'exsanguino-transfusion, comparée à une transfusion, allonge la procédure et ne semble améliorer ni la tolérance ni la durée d'efficacité de l'acte. L'abord du cordon est possible dès la 18e semaine d'aménorrhée, mais reste difficile à ce terme alors que, dans certaines immunisations sévères (en particulier anti-KEL1), des signes d'anémie fœtale sont décelés dès la 16e semaine d'aménorrhée. Dans ce cas, une transfusion péritonéale de quelques millilitres de globules rouges sous échographie peut permettre de « gagner du temps » sur la chronologie de la grossesse, en corrigeant partiellement l'anémie fœtale (résorption des globules rouges par voie lymphatique péritonéale).

L'indication des transfusions fœtales se fait préférablement (car plus précocement) à partir de l'évolution des mesures programmées et répétées de vélocimétrie Doppler systolique de l'artère cérébrale moyenne, sinon sur les signes échographiques indirects (et tardifs) d'anémie.

Après une première transfusion, l'anémie se reconstitue dans les 15 jours à 3 semaines qui suivent. Il faut savoir que la durée d'efficacité est plus courte pour le premier acte, en raison de la persistance d'hématies fœtales recouvertes d'anticorps. Ensuite, du fait du blocage de l'érythropoïèse fœtale, le pourcentage de globules perdus quotidiennement est de 1 %. Les actes transfusionnels ultérieurs sont décidés en considérant les données de la surveillance vélocimétrique et peuvent être réalisés jusqu'à la 34e-35e semaine d'aménorrhée.

La transfusion fœtale est réalisée dans des conditions strictes d'asepsie chirurgicale. Lorsque l'âge gestationnel permet d'envisager une extraction fœtale, la réalisation du geste au bloc opératoire permet le recours immédiat à une césarienne en cas de complication préopératoire du geste transfusionnel. Les étapes préalables au geste technique sont fondées sur une collaboration entre les équipes d'hémobiologie et de distribution des produits sanguins. Le sang doit être soigneusement sélectionné afin d'assurer la compatibilité entre sang maternel et sang fœtal. Il est donc nécessairement de groupe O sans hémolysine et KEL:–1 compatible avec le phénotype sanguin maternel de préférence étendu (JK, FY, MNS), pour prévenir une immunisation complémentaire. De plus, le concentré globulaire doit être de moins de 10 jours, irradié (pour éviter la GVH), CMV-négatif et réduit de volume pour un hématocrite final de 70 % et plus, afin de transfuser le moins de volume avec le plus d'efficacité. De surcroît, il est compatibilisé avec le plasma maternel avant d'être attribué.

Le premier temps consiste en une ponction de sang fœtal sous échographie et l'obtention du taux d'hémoglobine fœtale par un analyseur extemporané de type HemoCue®. L'anémie ayant été confirmée, la transfusion débute immédiatement. Ce premier prélèvement permet de réaliser une détermination du groupe sanguin fœtal, laquelle sera, avant que l'enfant sorte de la période d'hémolyse, la seule détermination possible pendant plusieurs mois. Il est à noter que c'est aussi à ce moment que doivent être prélevés tous les examens nécessaires à l'exploration de l'anémie (frottis, variant de l'hémoglobine) et que doit être réalisée une numération-formule sanguine, avec dosage des réticulocytes. Les volumes unitaires dépendent de l'âge gestationnel et peuvent varier de 2 à 10 ml. Tout nouveau volume sera injecté sous réserve d'un reflux vérifié et de contrôles réguliers et extemporanés de l'évolution du taux d'hémoglobine fœtale et de sa tolérance échographique. Le volume total transfusé est très variable selon la profondeur de l'anémie initiale (dont une correction seulement partielle sera réalisée), l'âge gestationnel et surtout la tolérance fœtale.

La transfusion intra-utérine reste grevée de plus de complications maternelles et fœtales que la cordocentèse, même dans des équipes expertes : 1 à 5 % de complications fœtales, allant des accidents de cordon (hématomes, plaie) à la mauvaise tolérance fœtale, celle-ci pouvant même imposer une

extraction si le terme l'autorise. Le pronostic d'une allo-immunisation avec anémie fœtale profonde est généralement considéré comme bon, lorsque la tolérance fœtale a été bonne lors du geste de transfusion intra-utérine et que l'on observe la régression des symptômes d'anasarque. Les séries prospectives de suivi des enfants nés après transfusion intra-utérine indiquent un développement cérébral normal dans 90 à 98 % des cas, ce qui signifie qu'un développement anormal peut être retrouvé chez un enfant sur dix dans les descriptions les plus défavorables. On peut proposer actuellement un suivi neuro-échographique régulier en cas d'anémie fœtale profonde traitée par transfusion *in utero*. Cette surveillance est actuellement complétée par la réalisation systématique d'une IRM cérébrale fœtale vers la 32e semaine d'aménorrhée (ou plus selon l'âge gestationnel au moment de la découverte de l'anémie).

Maladie hémolytique néonatale

Règles générales

Dans les circonstances où la survenue d'une MHNN peut être anticipée (RAI maternelles positives, avec anticorps identifié à retentissement néonatal, antécédents de MHNN sévère dans la fratrie, suspicion d'anémie à l'entrée en salle de naissance), la naissance doit avoir lieu dans un environnement expérimenté en pratique de photothérapie et transfusionnelle. En cas de découverte postnatale d'une anémie et/ou d'un ictère, dès qu'une origine hémolytique est évoquée, les capacités locales de prise en charge doivent être évaluées au regard du bénéfice d'un éventuel transfert vers une structure de soins plus adaptée.

En dehors de la prise en charge thérapeutique qui doit être commencée sans tarder (en raison de la rapidité de l'évolution), il faut mener parallèlement et d'emblée une démarche diagnostique étiologique du tableau observé. En particulier, toute MHNN symptomatique doit imposer une lecture des résultats des RAI maternelles les plus récentes. Si elles datent de plus de 15 jours, une nouvelle RAI maternelle doit être demandée (immunisation de fin de grossesse). Il est toujours très important d'assurer des prélèvements chez le nouveau-né, à visée étiologique, avant toute thérapeutique transfusionnelle.

Dans tous les cas, y compris dans les formes n'ayant pas nécessité de transfusion *in utero*, il n'existe aucun bénéfice à prolonger la grossesse au-delà de 37 semaines d'aménorrhée (SA). En effet, le transfert placentaire des anticorps, qui augmente de manière importante au cours de la grossesse, aboutit à des concentrations beaucoup plus élevées dans la circulation fœtale que dans la circulation maternelle à terme. Même en l'absence d'anémie *in utero*, le processus hémolytique se majore de manière constante en période néonatale et nécessite une prise en charge pédiatrique spécialisée immédiate, comportant, dans tous les cas, une photothérapie intensive et fait discuter,

selon les taux d'hémoglobine, de bilirubine libre et de leur évolution au cours des premières heures, une transfusion, voire une exsanguino-transfusion. Chez les fœtus ne présentant pas de signe d'anémie sévère d'après l'échographie-Doppler, les modalités d'accouchement sont celles d'un fœtus « à risque » : il n'y a pas de contre-indication *a priori* à l'accouchement par les voies naturelles, ni au déclenchement du travail ou à la maturation du col utérin sous surveillance continue du rythme cardiaque fœtal, les décisions d'extraction fœtale ne devant pas être retardées en cas de survenue de décélérations.

Les enfants ayant bénéficié d'une prise en charge transfusionnelle *in utero* (au-delà d'une transfusion) vont présenter une MHNN beaucoup plus atténuée que les autres (disparition des globules rouges recouverts d'anticorps), donc des ictères plus modérés, voire inexistants, mais vont avoir une dépendance transfusionnelle prolongée pendant plusieurs semaines ou plusieurs mois (au maximum trois).

Prise en charge de l'ictère

L'*exsanguino-transfusion* consiste en un échange de 1,5 à 2 masses sanguines, afin d'épurer le sang de la bilirubine en excès, des globules rouges en voie de lyse mais aussi de réduire le taux d'anticorps maternels circulants. Pour mémoire : la masse sanguine du nouveau-né est de 85 ml/kg à terme, approche 100 ml/kg chez le prématuré et 75 ml/kg après un mois de vie postnatale. Elle est réalisée en sang total reconstitué (concentré érythrocytaire de groupe O, sans hémolysine, irradié, phéno-compatible RH-KEL avec l'enfant s'il est connu ou la mère, CMV-négatif, réduit de volume et datant de moins de 5 à 8 jours, avec du plasma frais décongelé AB), *via* un cathéter central (le plus souvent cathéter veineux ombilical). C'est donc une procédure lourde, pour laquelle le choix et la préparation des produits sanguins demandent un délai de plusieurs heures. Cette thérapeutique, grevée de 5 à 10 % de morbidité et mortalité immédiate (thrombopénie, entérocolite, hypocalcémie, septicémie, etc.), est de moins en moins pratiquée. Elle est actuellement indiquée exclusivement en cas de :

- ictère résistant à une thérapeutique maximale bien conduite, avec une évolution du taux de bilirubine à plus de 30 à 40 μmol/l/h ;
- hyperbilirubinémie majeure dépassant 350 à 400 μmol/l au diagnostic ;
- signes neurologiques de toxicité de la bilirubine ;
- anémie sévère associée à l'hyperbilirubinémie.

Si l'exsanguino-transfusion est indiquée, le délai nécessaire à la préparation des produits sanguins doit être mis à profit pour assurer la prise en charge maximale de l'ictère et de l'anémie. À la correction partielle de l'anémie par transfusion simple, on associe un « test thérapeutique » qui, au contrôle de bilirubine 4 ou 6 heures plus tard, permet parfois de surseoir au geste — sauf en cas de signes neurologiques, qui constituent une indication formelle.

Les progrès de la *photothérapie* ont révolutionné la prise en charge de l'ictère d'origine hémolytique. Son principe est la dégradation de la bilirubine au niveau cutané par interaction avec une lumière incidente de longueur d'onde optimale (420-490 nm : bleue), les dérivés étant éliminés directement dans les selles et les urines, court-circuitant l'étape limitante d'élimination de la bilirubine qu'est le métabolisme hépatique. L'efficacité thérapeutique des dispositifs de photothérapie « intensive » (énergie lumineuse importante et dispensée sur la presque totalité de la surface cutanée) a réduit considérablement les indications d'exsanguino-transfusion. Dans la mesure où elle réduit la bilirubinémie non conjuguée (ou libre) mais ne bloque pas le processus hémolytique, la photothérapie doit être prescrite sans délai dès le diagnostic de MHNN avec ictère, de façon continue et sous contrôle d'efficacité (par le dosage de la bilirubine toutes les 6 à 12 heures). Elle est débutée dans la MHNN pour toutes les incompatibilités avec RAI maternelles positives dans l'heure qui suit la naissance, et les indications par référence aux courbes publiées (taux de bilirubine selon l'âge postnatal) sont réservées aux autres ictères hémolytiques diagnostiqués après la naissance ; en sachant que, pour les plus récentes, les processus hémolytiques sont un facteur aggravant et motivent donc une indication pour une bilirubinémie inférieure pour un même âge postnatal. Dans 80 à 90 % des cas, la photothérapie freine la progression du taux de bilirubine sur les premières 24 heures d'application puis, si elle est efficace, induit une décroissance. Son arrêt ne se fait pas avant 72 heures de traitement et toujours sous couvert d'un taux de bilirubine inférieur à 200 μmol/l. De plus, il est essentiel de surveiller, dans les 24-48 heures, la survenue d'un rebond de l'hyperbilirubinémie par dosage sanguin, car l'hémolyse n'est pas prévisible dans sa durée et son évolution. Des pics hémolytiques secondaires avec ictère sont bien connus entre J2 et J3, et autour de J7-J10, en particulier en cas de maladie Rhésus. L'évolution de l'ictère hémolytique suit aussi celle de l'adaptation métabolique postnatale de la bilirubine et dépend en outre de l'âge gestationnel et de la mise en place d'une alimentation complète, avec prise pondérale.

Les autres thérapeutiques de l'ictère sont les suivantes :

- perfusion d'albumine à 1,5 g/kg : la toxicité cérébrale de la bilirubine est liée à la bilirubine libre, non liée à l'albumine. Or, cette fraction de la bilirubine est en large excès dans les hémolyses brutales ou chroniques, même si le nouveau-né a une quantité d'albumine circulante normale. De plus, les capacités fonctionnelles de l'albumine chez le nouveau-né (en particulier à fixer la bilirubine) maturent avec l'âge gestationnel et postnatal et la barrière hémato-encéphalique même intacte laisse passer la bilirubine non conjuguée et non liée à l'albumine vers le cerveau. On comprend alors l'intérêt d'une perfusion d'albumine à 1,5 g/kg, sur 4 heures, dans l'attente de l'efficacité d'une photothérapie, d'une exsanguino-transfusion, ou pour un taux de bilirubine élevé chez un nouveau-né prématuré ou malade, ou

faisant face à une hémolyse intense (taux dépassant 350 à 400 μmol/l à terme) ;

- l'efficacité de la perfusion de 0,5 à 1,5 g/kg d'immunoglobulines polyvalentes a été établie, plus particulièrement dans les maladies Rhésus et ABO sévères pour éviter le recours à une exsanguino-transfusion et même diminuer la durée d'hospitalisation et de photothérapie, sous réserve d'être prescrite précocement dans l'évolution de l'hémolyse. Aussi, l'Académie américaine de pédiatrie réserve-t-elle l'usage des immunoglobulines polyvalentes à des hyperbilirubinémies évolutives malgré une photothérapie bien conduite ou justifiant d'une exsanguino-transfusion au diagnostic. En effet, une perfusion d'immunoglobulines polyvalentes est plus aisément réalisable qu'une exsanguino-transfusion, et l'effet des immunoglobulines par blocage de l'hémolyse survient dans les 6 heures après le début de perfusion. La tolérance immédiate du traitement est bonne, mais on dispose de peu de données sur d'éventuels effets secondaires à moyen terme ;
- analogues de l'hème, les métalloporphyrines inhibent l'hème oxygénase, réduisant ainsi la formation de bilirubine. Elles ont une grande efficacité sur la progression du taux de bilirubine chez des enfants ayant débuté une hémolyse (en particulier dans les déficits en glucose-6-phosphate déshydrogénase). L'usage est parentéral et une seule administration peut suffire. Ce produit n'est pas disponible dans de nombreux pays (dont la France) mais paraît prometteur, sous réserve d'une meilleure définition des effets secondaires, en particulier à long terme.

Prise en charge de l'anémie

Les principes généraux de la correction d'une anémie s'appliquent à la MHNN. Le taux d'hémoglobine ou un hématocrite ne sont jamais des gâchettes pour déclencher une demande de concentrés érythrocytaires. Les seuils transfusionnels sont fonction à la fois de la concentration en hémoglobine et de l'hématocrite selon l'âge gestationnel, de l'existence de signes de régénération médullaire, de la rapidité d'installation, de signes cliniques de mauvaise tolérance, des pathologies ou de facteurs de risque associés (détresse respiratoire, incompatibilité fœtomaternelle). Il faut respecter ces seuils définis par l'HAS et l'Afssaps : pas d'indication transfusionnelle en cas d'hémoglobine supérieure à 12 g/dl à la période initiale et à 10 g/dl avant 2 semaines postnatales ; hors période ou pathologie aiguë, le seuil est fixé à 7-8 g/dl (ou hématocrite à 22-24 %) si la réticulocytose est inférieure à 100 000/mm^3. Une autre indication est une perte brutale de 10 % du volume circulant.

Le volume transfusé doit être calculé scrupuleusement chez ces enfants en situation d'hémolyse chronique, afin de réduire le nombre de transfusions et de les espacer. Plutôt que la règle des 10 à 20 ml/kg de concentré

érythrocytaire qui prévaut dans les unités de néonatologie, il faut préférer le calcul des doses de concentré érythrocytaire à transfuser en fonction du taux d'hémoglobine ou de l'hématocrite du concentré érythrocytaire (55 à 75 % suivant le type de produit ; solution de conservation). La formule est la suivante : Poids (kg) × Hausse désirée d'hémoglobine (g/dl) × (3/Hématocrite). Ce volume est perfusé sur une voie large à la seringue sur une période de 4 heures. Dans les incompatibilités sévères, il est judicieux de disposer d'un concentré érythrocytaire de groupe O, sans hémolysine, compatible, rapidement disponible car il sera nécessaire en cas d'anémie mal tolérée. Même en présence d'ictère, c'est la correction rapide de l'anémie (même si cette correction est partielle) qui est prioritaire et ce, même si une exsanguino-transfusion doit être réalisée secondairement. Une correction d'anémie sous forme d'échange en concentré érythrocytaire pur ne doit être réservée qu'aux enfants très instables sur le plan hémodynamique (anasarque) : ils sont désormais rares. Il faut être très vigilant quant à la rapidité de chute du taux d'hémoglobine, en particulier lorsque l'hyperbilirubinémie persiste sous photothérapie ou présente des rebonds évolutifs : il ne faut pas hésiter à demander un contrôle d'hémogramme.

Après la première semaine, l'hémolyse se poursuit dans les incompatibilités Rhésus, en particulier pendant les 3 premiers mois de vie, parallèlement à une croissance importante de la masse corporelle et à l'évolution physiologique de l'hématopoïèse qui va générer une anémie « physiologique » entre 4 et 6 semaines. Il convient donc de surveiller l'hémogramme tous les 7 à 10 jours, tant que l'érythropoïèse n'a pas pris le dessus sur l'hémolyse, c'est-à-dire en moyenne pendant les 2 premiers mois de vie. Il faut rester vigilant dans les maladies Rhésus et apparentés qui ont une symptomatologie néonatale pauvre en phase initiale (RH4 et RH3 en particulier), car elles peuvent se compliquer d'une anémie profonde à 3 semaines à 1 mois de vie.

Parmi les autres thérapeutiques correctives de l'anémie, il faut mentionner :

- l'érythropoïétine (EPO) : elle a été proposée dans les maladies hémolytiques Rhésus pour réduire le nombre de transfusions. Son efficacité est pourtant limitée et aléatoire, comme le corroborent les taux d'EPO très variés constatés chez ces enfants ;
- la supplémentation en fer : elle n'est pas indiquée dans la MHNN, en particulier chez les nouveau-nés transfusés *in utero*, qui ont des taux de ferritine considérables, l'hémolyse et les transfusions faisant même courir un risque de surcharge en fer. Il est prudent de recommander que toute prescription de fer dans le contexte d'une maladie hémolytique néonatale soit justifiée par un dosage de ferritine ;
- la supplémentation en folates : elle paraît en revanche s'imposer chez ces enfants.

4 Risques maîtrisés et risques à maîtriser

4.1 Agents infectieux transmissibles par voie sanguine

Malgré une meilleure maîtrise des divers éléments de la chaîne transfusionnelle et les progrès scientifiques et techniques accomplis, durant les vingt-cinq dernières années, dans le domaine du dépistage des agents infectieux, le risque de transmettre ces agents par transfusion, quoique très réduit, ne peut encore être considéré comme totalement maîtrisé pour l'ensemble des agents transmissibles par le sang. Ces derniers se répartissent, selon leur nature, en plusieurs catégories :

- des virus, parmi lesquels les dernières décennies ont individualisé les trois « virus transfusionnels majeurs » que sont les agents des hépatites B (VHB) et C (VHC) et le virus de l'immunodéficience humaine (VIH), mais aussi le virus des leucémies et lymphomes T humains (HTLV-I) et d'autres agents viraux de pathogénicité et/ou de risque moindre ;
- des parasites, dont le *Plasmodium falciparum*, vecteur du paludisme, est le plus redouté, mais aussi *Trypanosoma cruzi*, vecteur de la maladie de Chagas ;
- des bactéries : moins le tréponème de la syphilis, dont la transmissibilité transfusionnelle a toujours été sujette à caution, que des bactéries comme *Escherichia coli*, *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus cereus* ou *Klebsiella oxytoca*, qui peuvent être à l'origine d'un des accidents les plus graves de la transfusion actuelle ;
- des « agents transmissibles non conventionnels », dont le variant de la maladie de Creutzfeldt-Jakob (prion) est à ce jour l'unique représentant dont la transmission transfusionnelle a été documentée.

La présence sanguine, mais asymptomatique, de certains agents infectieux chez un donneur de sang implique un risque de transmission aux receveurs des produits sanguins labiles élaborés à partir de son don. Ce risque est actuellement presque totalement maîtrisé pour des agents viraux tels que le VIH, le VHB, le VHC, le cytomégalovirus (CMV) et le HTLV-I, mais d'autres agents pathogènes, non dépistés ou non détectables par les moyens biologiques actuels, comportent un risque transfusionnel influencé soit par le statut du receveur (comme son état immunitaire), soit par le contexte épidémiologique de la population générale vis-à-vis de l'agent infectieux, qu'il s'agisse d'un agent émergent ou réémergent.

© 2015 Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

La sécurité transfusionnelle repose aujourd'hui sur quatre mesures fondamentales :
- la sélection clinique des candidats au don de sang lors de l'entretien médical qui doit précéder chaque don, quelle qu'en soit la nature (sang total ou don par cytaphérèse) ;
- le dépistage des dons infectieux lors de la qualification biologique des dons à l'aide d'une batterie de tests sérologiques ou moléculaires ;
- les mesures de réduction virale sur les produits sanguins labiles (leucoréduction, viro-atténuation du plasma) ;
- enfin, la rationalité des indications transfusionnelles.

Il se profile, à l'horizon des prochaines années, des procédures radicales de « réduction des agents pathogènes » sur les produits sanguins labiles : seulement applicables à ce jour sur les concentrés plaquettaires et le plasma, elles seront certainement rendues systématiques lorsque l'applicabilité sur les concentrés érythrocytaires sera acquise, sous réserve qu'aucun effet délétère ne se manifeste pendant la période d'expertise. Sur le risque transfusionnel infectieux, elles constitueront en tout cas la mesure sécuritaire majeure de la décennie qui verra leur systématisation.

Le risque infectieux encouru par le receveur de produits sanguins labiles constitue, à côté du risque immunologique et de l'efficacité clinique de ces produits, une préoccupation du prescripteur, lequel se trouve parfois rejoint, sur ce point, par le patient lui-même, le danger viral des transfusions étant désormais entré dans l'inconscient collectif, tout au moins en France.

Virus transmissibles par transfusion

Tous les virus pouvant infecter l'homme sont théoriquement susceptibles d'être transmis par voie sanguine, dès lors qu'ils circulent un temps dans le sang. Toutefois, seuls certains bénéficient d'un dépistage systématique sur chaque don de sang. Parmi les éléments qui conditionnent ce dépistage, les primordiaux sont une virémie de durée prolongée, une transmissibilité par le sang et des conséquences cliniques avérées chez le receveur. Les virus sont présents dans le sang sous deux formes (qui peuvent, dans certains cas, être associées) :
- à l'intérieur des cellules sanguines, en particulier les leucocytes, comme dans l'infection par le CMV ou par les virus HTLV-I et HTLV-II ;
- libres dans le plasma :
  – soit sous la forme d'une virémie intense et de courte durée, qui peut précéder les signes cliniques : le risque de transmission transfusionnelle est alors très faible ; c'est le cas des virus des hépatites A (VHA) ou E (VHE) et du parvovirus B19 ;
  – soit sous la forme d'une virémie prolongée ou chronique, et ce en l'absence de signes cliniques : le risque de transmission transfusionnelle devient alors notable ; c'est le cas des VIH, VHB et VHC.

Le tableau 4.1 rassemble les principales caractéristiques des virus ayant été impliqués dans les dernières années dans la transmission transfusionnelle.

Tableau 4.1. Principales caractéristiques des virus impliqués dans la transmission transfusionnelle.

	Famille	Acide nucléique	Virus enveloppé	Pathologies associées	Autres modes de transmission que la voie transfusionnelle
VIH	*Retroviridae*	ARN	Oui	Sida	Sexuelle Toxicomanie veineuse Verticale
VHC	*Flaviviridae*	ARN	Oui	Hépatites aiguë et chronique, cirrhose, carcinome hépatocellulaire	Toxicomanie veineuse Nosocomiale Verticale
VHB	*Hepadnavirus*	ADN	Oui	Hépatites aiguë et chronique, cirrhose, carcinome hépatocellulaire	Toxicomanie veineuse Sexuelle Nosocomiale Verticale
HTLV-I	*Retroviridae*	ARN	Oui	Leucémie T, lymphome T, Paraparésie spastique tropicale	Toxicomanie veineuse Allaitement Sexuelle
CMV	*Herpesviridae*	ADN	Oui	Maladie des inclusions cytomégaliques	Salivaire Sexuelle Mère-enfant
Érythrovirus (parvovirus B19)	*Parvoviridae*	ADN	Non	Érythroblas-topénie, érythème cutané, arthralgie, anasarque fœtoplacentaire	Aérienne
VHA	*Picornaviridae*	ARN	Non	Hépatite aiguë	Entérale
VHE	*Caliciviridae*	ARN	Non	Hépatites aiguë et chronique (chez l'immuno-déprimé)	Entérale

Virus à dépistage systématique et obligatoire

Virus de l'hépatite B (VHB)

Le VHB est très répandu dans le monde : on estime à environ 350 millions le nombre de porteurs chroniques (soit 5 % de la population mondiale). Les estimations réalisées par l'Institut de veille sanitaire (InVS) en 2004 sur une population d'assurés sociaux ont montré que 0,65 % de la population générale française serait porteuse du virus, ce qui place la France dans les pays de faible endémie. Les modes de contamination sont la voie sanguine (transfusion avant le dépistage des marqueurs spécifiques, toxicomanie par voie intraveineuse, contamination parentérale avec du matériel souillé, blessure accidentelle exposant au sang), la transmission sexuelle (homosexuelle ou hétérosexuelle), la transmission verticale de la mère à l'enfant lors de l'accouchement.

Le VHB appartient à la famille des *Hepadnaviridae*, genre *Hepadnavirus*. Virus à ADN, il possède une enveloppe porteuse de l'antigène HBs (AgHBs). Lors de sa réplication dans l'hépatocyte, il est excrété de la cellule hépatique sous sa forme complète et passe dans la circulation sanguine. Dans le même temps, il y a sécrétion de l'AgHBs produit en excès. Le VHB se répartit en huit génotypes principaux, notés de A à H dont la répartition varie géographiquement. Les génotypes A (20 à 30 %) et D (30 à 40 %) sont les plus fréquemment rencontrés en Europe. La virémie peut atteindre des niveaux très élevés (plusieurs milliers de particules/ml de plasma), en particulier lors de la phase aiguë de l'infection, mais elle peut également être plus basse, de l'ordre de quelques dizaines ou centaines d'unités/ml chez des porteurs chroniques. La sévérité de l'infection est liée à l'hépatite fulminante, survenant à la phase aiguë dans un cas sur 1 000, et à l'infection chronique dans 5 à 10 % des cas chez l'adulte immunocompétent, avec le risque d'une évolution vers le carcinome hépatocellulaire sur cirrhose.

La prévention de la transmission transfusionnelle repose, d'une part, sur l'entretien médical précédant le don, permettant de sélectionner les sujets exempts de circonstances ayant pu les mettre en contact avec le virus (sexualité à risque, contacts sanguins par échanges de seringues lors d'une toxicomanie par voie veineuse, contexte familial d'infection à VHB), d'autre part sur le dépistage de l'antigène de surface du virus (AgHBs) réalisé sur tout don de sang depuis 1971, des anticorps anti-HBc dirigés contre la capside virale recherchés depuis 1988, et sur la détection systématique de l'ADN viral en place sur tous les dons de sang depuis 2010 (initiée en 2005 dans les DOM et 2006 au CTSA).

Le taux de donneurs positifs pour l'AgHBs décroît régulièrement. En 2013, parmi les 2,76 millions de dons prélevés, 223 ont été trouvés positifs pour ce marqueur, dont 220 provenaient de nouveaux donneurs (soit

4,9 pour 10 000 dons), tandis qu'un seul provenait d'un donneur connu (soit 0,01 pour 10 000 dons). Le facteur de risque principal retrouvé était l'origine géographique (près de 70 % des sujets étaient originaires d'un pays de moyenne ou de forte endémie). Parmi les 10,7 millions de dons testés pour l'ADN fin 2013, neuf ne présentaient que de l'ADN.

Si le dépistage des marqueurs biologiques spécifiques de l'infection par le VHB dans les dons de sang est le moyen essentiel de prévention de l'hépatite B post-transfusionnelle, il existe d'autres modes de prévention spécifique pour les autres populations à risque : prévention passive par immunoglobulines spécifiques, préparées par fractionnement de plasmas riches en anticorps anti-HBs prélevés chez des donneurs de sang (ces immunoglobulines confèrent une protection immédiate, mais transitoire) ; prévention active par le vaccin contre le VHB, lequel est constitué d'AgHBs (d'origine plasmatique autrefois, obtenu par recombinaison génétique aujourd'hui). Ces deux modes de prévention sont combinés chaque fois que la protection doit être immédiate et de longue durée (comme chez le nouveau-né d'une mère infectée), l'administration d'immunoglobulines ne nuisant pas au développement de l'immunité active.

Virus de l'hépatite C (VHC)

On estime que 200 millions de personnes dans le monde ont des marqueurs de l'infection. La France est un pays d'endémicité moyenne, avec un taux de 0,84 % de sujets infectés, dont 65 % sont porteurs de l'ARN viral (ce qui témoigne, dans la majorité des cas, d'une infection chronique). Le vecteur de contamination principal est le sang : des antécédents transfusionnels (datant d'avant le dépistage systématique des anticorps anti-VHC) sont un des facteurs de risque majeurs, avec la toxicomanie par voie veineuse. La transmission sexuelle est rare, de même que la transmission verticale ; celle-ci est toutefois majorée en cas de co-infection avec le VIH. Aucun facteur de risque n'est toutefois retrouvé chez 20 à 30 % des sujets porteurs du virus. Ceci explique que les campagnes de dépistage ciblées sur les populations à risque laissent échapper une partie des personnes contaminées.

Le VHC appartient à la famille des *Flaviviridae*, genre *Hepacivirus*. Il s'agit d'un virus à ARN monocaténaire et enveloppé. Il en existe plusieurs génotypes, dont les plus fréquemment rencontrés en France sont le génotype 1 (60 à 70 % des souches, deux tiers de sous-type 1b, qui est le plus prévalent chez les sujets ayant des antécédents transfusionnels, et un tiers de sous-type 1a), puis le génotype 3a (20 %), rencontré surtout chez les toxicomanes par voie veineuse. Les virémies sont très variables : classiquement élevées à l'acmé de l'hépatite aiguë, elles peuvent atteindre des taux faibles (quelques dizaines de copies) au début de la phase aiguë, tout comme lors de la phase chronique chez des sujets qui contrôlent la réplication virale.

La gravité de l'infection est liée aux conséquences de l'infection chronique, dont le risque évolutif est le carcinome hépatocellulaire sur cirrhose. En revanche, contrairement au VHB, l'absence d'élimination virale après contamination est un cas de figure beaucoup plus fréquent, car le virus persiste dans 60 à 70 % des cas. Alors qu'il ne semble pas exister d'hépatites fulminantes lors de la phase aiguë, l'évolution vers la chronicité fait de l'infection par ce virus un problème majeur de santé publique.

Hormis l'exclusion des candidats au don à risque, la sécurité transfusionnelle biologique repose en France sur la détection des anticorps anti-VHC, laquelle a été systématisée sur les dons de sang en 1990 et complétée par le DGV du VHC en 2001. Le taux de donneurs positifs décroît régulièrement. En 2013, parmi les 2,76 millions de dons prélevés, 117 ont été trouvés positifs pour ce marqueur, dont 109 provenant de nouveaux donneurs (soit 2,42 pour 10 000 dons) et 8 provenant de donneurs connus (soit 0,03 pour 10 000 dons). Les facteurs de risque principaux étaient des antécédents de toxicomanie chez les donneurs de sexe masculin et la transmission nosocomiale chez les femmes.

Par ailleurs, de juillet 2001 à décembre 2013, 34,2 millions de dons ont bénéficié du DGV du VHC. Parmi eux, 2 561 dons positifs pour le VHC ont été identifiés : 67,4 % étaient positifs en ARN et en anticorps, 0,5 % positifs en ARN et négatifs en anticorps (dont deux auraient été écartés de l'utilisation transfusionnelle en raison de la présence de marqueurs associés), 32,1 % négatifs en ARN et positifs en anticorps.

Virus de l'immunodéficience humaine (VIH)

Selon les données de l'Organisation mondiale de la Santé, près de 34 millions de personnes vivantes seraient porteuses du VIH sur l'ensemble de la planète (données de 2011). La très large majorité est infectée par le VIH-1, le VIH-2 restant lié à l'Afrique de l'Ouest. En France, en 2005, le chiffre était estimé entre 100 000 et 170 000 personnes, avec une incidence évaluée à 7 000 sujets contaminés annuellement (données de l'Institut de veille sanitaire de 2009). Le virus se transmet par voie parentérale — toxicomanie par voie veineuse, transfusion de produits sanguins labiles et de certains produits sanguins stables (avant les mesures préventives appliquées), piqûre accidentelle —, voie sexuelle, enfin verticalement de la mère à l'enfant (avant la prophylaxie antivirale spécifique).

Le VIH appartient à la famille virale des *Retroviridae*, plus particulièrement au groupe des lentivirus. Il possède une enveloppe, contient un ARN et une enzyme spécifique, la transcriptase inverse, qui permet la transcription de l'ARN viral en un ADN pouvant ainsi s'intégrer dans le génome de la cellule hôte (préférentiellement les lymphocytes CD4, support de la réponse immunitaire) pour assurer la réplication virale. Chez les sujets infectés, on

retrouve le virus intégré à l'état proviral dans l'ADN des lymphocytes et circulant à l'état de virion mature dans le plasma.

Les virémies sont très variables selon les cas : élevées lors de la primo-infection (sauf dans les premiers jours de celle-ci), elles peuvent atteindre des taux faibles (quelques dizaines à centaines de copies lors de la phase chronique). Il existe une grande variabilité génétique des VIH, en particulier du VIH-1, pour lequel ont été identifiés trois groupes :

- le groupe M (pour « Majeur ») inclut la quasi-totalité des souches répertoriées. Il est lui-même subdivisé en neuf sous-types (A à I). Le sous-type B regroupe les isolats provenant des pays industrialisés (Amérique du Nord, Europe, Japon) et représente environ 60 % des génotypes retrouvés chez les donneurs de sang français. La diffusion de sous-types non-B en Europe est de plus en plus fréquente. De plus, il existe des formes recombinantes, associant plusieurs génotypes émergeant à la faveur des co-infections ;
- le groupe O (pour « Outlier ») rassemble un nombre limité de souches très éloignées de celles du groupe M et isolées quasi exclusivement chez des sujets originaires ou en contact avec certaines régions d'Afrique centrale (Cameroun) ;
- les groupes N et P regroupent quelques isolats d'origine africaine.

Le VIH-2 est retrouvé chez 2 % des sujets séropositifs pour le VIH et chez 0,5 % des donneurs de sang français séropositifs pour le VIH.

L'histoire naturelle de l'infection par le VIH-1 peut être scindée en trois phases : une primo-infection, symptomatique ou non (la symptomatologie, survenant environ 2 à 6 semaines après le contact infectant, est peu spécifique : fièvre, éruption, lymphadénopathie généralisée ; un syndrome mononucléosique inexpliqué doit faire suspecter une primo-infection). S'ensuit une latence clinique dont la durée moyenne (sans traitement) est de l'ordre d'une dizaine d'années. Puis, après une baisse du taux de lymphocytes CD4, apparaît une immunodépression responsable d'infections opportunistes et de pathologies tumorales (sarcome de Kaposi, lymphome, cancer). Le VIH-2 semble moins pathogène que le VIH-1, l'immunodéficience ne survenant en moyenne qu'après une latence sensiblement plus prolongée.

La sécurité transfusionnelle biologique repose sur la détection des anticorps anti-VIH dans les dons de sang (systématisée en France en 1985), associée au DGV depuis 2001, afin de réduire le risque résiduel d'une fenêtre sérologique estimée à 22 jours.

Le taux de donneurs de sang positifs pour le VIH décroît régulièrement. En 2013, parmi les 2,76 millions de dons prélevés, 33 étaient positifs, dont 11 provenaient de nouveaux donneurs (soit 0,20 pour 10 000) et 22 de donneurs connus (soit 0,09 pour 10 000). Le facteur de risque retrouvé dans plus de 80 % des cas était une exposition sexuelle au virus, ces cas étant

répartis en parts sensiblement égales, chez les donneurs de sexe masculin, entre un partenariat de même sexe et un partenariat de sexe différent. Par ailleurs, de juillet 2001 à décembre 2013, parmi 32,4 millions de dons ayant bénéficié du DGV du VIH, 426 étaient positifs pour le VIH, dont 93,0 % étaient positifs à la fois en ARN et en anticorps, 4,7 % étaient positifs en ARN et négatifs en anticorps, et 2,3 % étaient négatifs en ARN et positifs en anticorps. Parmi les 20 dons positifs en ARN et négatifs en anticorps, 2 auraient été écartés de l'utilisation transfusionnelle, l'un pour la positivité des anti-HBc et l'autre pour la présence d'un marqueur syphilitique ; tous se trouvaient dans la fenêtre silencieuse lors du don. Des 10 donneurs négatifs pour l'ARN mais positifs en anticorps, 3 étaient infectés par le VIH-2, 1 par le VIH-1 de groupe O et 6 avaient des charges virales indétectables. L'existence de tels dons certainement contaminants justifie le maintien du dépistage des anticorps.

HTLV-I et HTLV-II

L'épidémiologie mondiale des virus HTLV (*Human T-cell Leukemia Virus*) est mal connue. On estime que 5 à 10 millions d'individus seraient infectés par ce virus mondialement. Il existe des zones d'endémie bien identifiées : le sud-est du Japon, les Caraïbes, l'Afrique noire et l'Amérique du Sud, zones dans lesquelles on observe cependant d'importantes variations interrégionales. Dans les départements français des Antilles (Guadeloupe et Martinique), la prévalence est de 1 à 2 %. Les modes de transmission sont la voie parentérale, la voie sexuelle (plus efficace, pour ce virus, de l'homme vers la femme que dans le cas contraire) et l'allaitement.

Les HTLV-I et II appartiennent à la famille virale des *Retroviridae*, plus particulièrement au groupe des oncovirus : ils possèdent une enveloppe et contiennent un ARN et une enzyme spécifique, la transcriptase inverse, qui permet la transcription de l'ARN viral en un ADN s'intégrant au génome de la cellule hôte. Contrairement aux VIH qui ont un pouvoir cytopathique, les HTLV sont oncogéniques par expansion clonale. Sur le plan transfusionnel, il est important de noter que le plasma des sujets infectés est exempt du virus, lequel ne se retrouve que dans la lignée blanche des cellules sanguines.

La grande majorité des sujets infectés sont asymptomatiques et le restent toute la vie : moins de 5 % développent des signes cliniques, après un très long délai d'incubation (souvent supérieur à 30 ans). Deux maladies sont en relation avec l'infection : l'une est neurologique (la paraparésie spastique tropicale), l'autre est hématologique (leucémie T ou lymphome T).

La sécurité transfusionnelle repose sur le dépistage des anticorps (systématisé aux Antilles et en Guyane depuis 1989, puis à la France entière en 1991) et tout autant sur la déleucocytation des produits sanguins, appliquée depuis 1998 (le produit déleucocyté doit contenir moins de 10^6 leucocytes

résiduels). Comme un taux de 10^7 lymphocytes serait nécessaire pour transmettre le virus par un produit infecté, le risque de transmission transfusionnelle de ce virus exclusivement intraleucoytaire peut être considéré comme pleinement maîtrisé, au point de ne pas rendre illégitime la question d'un dépistage spécifique limité à certains dons (premiers donneurs, notamment).

Le nombre de donneurs trouvés annuellement positifs pour l'anticorps anti-HTLV-I/II — il s'agit presque toujours, en France, du HTLV-I — est faible par rapport aux trois virus transfusionnels majeurs en France métropolitaine : 18 cas sur 2,7 millions de dons en 2013 tous étant des nouveaux donneurs ; la prévalence est cependant cent fois supérieure aux Antilles. Les facteurs de risque sont l'origine géographique ou un partenaire originaire d'une zone endémique.

« Autres » virus à risque transfusionnel

Érythrovirus

Les érythrovirus (parvovirus B19) ont une virémie classiquement très brève. La circulation du virus dans la voie sanguine survient environ 7 jours après la contamination. Les titres observés lors de la phase aiguë de l'infection sont très élevés, jusqu'à 10^{14} particules virales/ml. La population des donneurs de sang est soumise, au même titre que la population générale, aux variations saisonnières des épidémies, conduisant à une prévalence plus élevée dans les dons au printemps et à l'automne. Même s'il est, en règle générale, peu pathogène, le parvovirus B19 peut occasionner des complications graves chez le malade immunodéprimé ou atteint d'hémolyse chronique. Malgré la prévalence élevée de sujets immunisés (plus de 50 % de la population adulte), des cas de transmission transfusionnelle ont été documentés, mais ils demeurent anecdotiques. En raison de l'effet de concentration lié au poolage des plasmas, qui aboutissait à une haute probabilité de présence du parvovirus dans les pools, une prévention spécifique a été mise en place, laquelle écarte du poolage les dons de plasma reconnus parvovirémiques.

Virus de l'hépatite A (VHA)

Le virus VHA a une virémie très brève (quelques jours), précédant l'infection aiguë souvent asymptomatique ou pauci-symptomatique. Sa transmission transfusionnelle est, en raison de la brièveté de la virémie, exceptionnelle par les produits labiles. En France, la recherche de l'ARN du VHA est réalisée au même titre que l'ADN du parvovirus B19 sur les dons dont le plasma est destiné au fractionnement, en raison d'une transmission possible à de nombreux receveurs, s'il s'avérait que, dans le mélange,

se trouvait le plasma d'un donneur en phase virémique et du fait de l'action limitée des méthodes d'inactivation sur les virus non enveloppés, dont fait partie ce virus.

Virus de l'hépatite E (VHE)

Bien que l'infection par le VHE soit essentiellement d'origine entérale par ingestion d'aliments contaminés (viande de porc peu cuite, coquillages), la transmission transfusionnelle du virus est avérée. Toutefois, seuls les PSL (tous les produits sont concernés y compris le plasma inactivé) ont été décrits dans les cas transfusionnels rapportés, aucune transmission par MDS n'ayant été à ce jour identifiée. Après une incubation de 2 semaines s'installe une virémie d'environ 4 semaines. L'infection est asymptomatique dans 98 % des cas et évolue favorablement. Néanmoins, chez les sujets fragiles (immunodéprimés, greffés ou porteurs de pathologies hépatiques sous-jacentes), la maladie peut être plus sévère et aboutir à la chronicité (non observée chez les sujets bien portants) dans 60 % des cas. Le virus est très répandu en Europe occidentale comme en attestent les taux de séroprévalence rapportés qui sont en moyenne de 25 %. Les études menées en Europe à la recherche de l'ARN dans les dons de sang montrent quant à elles des taux de prévalence s'échelonnant entre 1 pour 14 520 en Écosse en 2013 et 1 pour 1 240 en Allemagne en 2012. En France, l'introduction de la recherche de l'ARN-VHE fin 2012 sur des pools de 96 plasmas destinés à la fabrication du plasma SD a montré jusqu'à la mi-2014, une prévalence d'environ 1 pour 2 000 dons. À la date de la réaction de ce chapitre, une réflexion est menée en France pour éventuellement étendre le dépistage de l'ARN-VHE.

Cytomégalovirus (CMV)

Le CMV est, parmi les virus du groupe herpès, celui ayant le rôle le plus important dans les syndromes mononucléosiques post-transfusionnels. Il possède une enveloppe glycoprotéique entourant une nucléocapside renfermant un ADN. Le virus est disséminé par voie sanguine et se trouve quasi exclusivement présent dans la fraction leucocytaire du sang. Une infection latente persiste indéfiniment chez le sujet porteur du virus. La détection des anticorps sériques est actuellement la seule méthode utilisée pour identifier un don de sang potentiellement infectieux (en France, près de 60 % des adultes sont séropositifs pour le CMV).

Le syndrome clinique et hématologique lié à l'infection à CMV est relativement bénin chez les sujets immunocompétents — il peut associer une mononucléose, une hépatomégalie modérée, une cytolyse peu marquée, rarement un ictère —, mais peut être grave chez les sujets immunodéprimés (greffés, prématurés). La sélection d'unités de sang séronégatives ne

se justifie donc que pour ces derniers. De surcroît, la déleucocytation désormais systématique des produits sanguins prévient de manière radicale la transmission du virus.

Les arboviroses (*West Nile Virus*, virus chikungunya, virus de la dengue)

Quelques situations épidémiques suggérant la possibilité d'une émergence infectieuse à impact transfusionnel ont pu, par le passé, imposer l'instauration en urgence de mesures préventives aussi amples que la suspension de la collecte, la mise en quarantaine des dons, voire le développement d'un dépistage dédié. De telles mesures comportant d'importantes répercussions en termes de santé publique, notamment par la limitation de l'approvisionnement des établissements de soins en produits sanguins labiles, il convient que leur mise en place et la durée de leur application soient adaptées au risque de transmission transfusionnelle qu'elles sont censées combattre.

Les arboviroses, outre le fait d'être des infections transmises par des vecteurs (des moustiques essentiellement), ont pour dénominateur commun d'être responsables d'explosions épidémiques dès lors que les conditions d'une expansion entomologique sont réunies. Ces infections présentent la particularité d'être responsable de virémie en règle générale de courte durée (moins d'une semaine en moyenne), mais précédant l'apparition des signes cliniques de 1 à 2 jours, période durant laquelle un sujet est infectieux et peut passer le filtre de l'entretien pré-don. Ceci justifie les mesures conservatoires en vigueur qui imposent une exclusion temporaire de 28 jours des sujets ayant fait un séjour ne serait-ce que d'une nuit dans les pays ou zones géographiques où les virus sévissent.

Si l'organisation transfusionnelle nord-américaine s'est trouvée confrontée, ces dernières années, au risque lié au *West Nile Virus*, qui a brusquement émergé sur ce territoire, la transfusion française a connu une situation analogue lors de l'épidémie de chikungunya qui s'est déclarée en 2005-2006 sur l'île de la Réunion. La collecte de sang a dû être limitée à la seule production de concentrés plaquettaires, lesquels ont été sécurisés par un traitement d'inactivation des pathogènes (procédé Intercept®), dont c'était d'ailleurs l'une des toutes premières applications mondiales, en dehors des protocoles de faisabilité et d'innocuité.

D'autres situations épidémiques inopinées, telles que celle ayant soumis les Caraïbes au virus chikungunya en 2014, ont imposé la mise en place de mesures sécuritaires adaptées pour les dons collectés sur place (détection du génome viral, inactivation des pathogènes sur les produits plaquettaires) et des mesures conservatoires du type exclusion temporaire sur l'ensemble du territoire.

Parasites transmissibles par transfusion

Les parasites en cause sont ceux à circulation sanguine constante, qu'elle soit intermittente ou occasionnelle, que la parasitémie soit intracellulaire (tableau 4.2) ou extracellulaire (*Trypanosoma cruzi*, agent de la maladie de Chagas).

Le paludisme post-transfusionnel est encore un risque en France comme dans tous les pays : la fréquence des voyages ainsi que l'importance de l'immigration africaine ou en provenance du Sud-Est asiatique ont augmenté le nombre de porteurs de *Plasmodium*, en particulier de *Plasmodium falciparum*, le plus dangereux, car il survit dans les conditions de conservation des globules rouges à + 4°C. L'incubation est de 10 à 14 jours dans l'infection à *Plasmodium falciparum*, mais, devant un syndrome fébrile inexpliqué survenant chez un transfusé, le médecin doit évoquer la possibilité d'un paludisme post-transfusionnel, d'autant qu'un retard dans le diagnostic et le traitement peut aggraver le pronostic. Dans deux tiers des cas, seule la découverte fortuite de l'hématozoaire à l'occasion d'une formule sanguine conduit au diagnostic. Les produits sanguins labiles exposant au risque de paludisme sont ceux contenant des globules rouges, même en faible quantité (comme les concentrés de plaquettes). La conservation à 4°C n'entraîne pas de réduction de l'infectiosité, au moins pendant les 3 premières semaines. En France, la prévention repose sur une sélection des donneurs par l'interrogatoire (sujets ayant séjourné en zone d'endémie et dont la date de retour se situe dans une période supérieure à 4 mois et inférieure à 3 ans) et, s'il y a lieu, sur la recherche d'anticorps spécifiques dans le plasma (premiers donneurs originaires d'une région impaludée).

D'autres maladies parasitaires peuvent être transmises par transfusion de produits sanguins labiles, comme les trypanosomiases, en particulier la maladie de Chagas qui depuis 2007 fait l'objet, en France, d'un dépistage ciblé des anticorps chez les donneurs à risque, notamment liés aux zones d'endémies (Amérique centrale ou du Sud). Dans cette parasitose, l'homme est un hôte accidentel, infecté la nuit par les déjections de triatomes infectés.

La brucellose, le kala-azar, la toxoplasmose et certaines filarioses de même que la babésiose sont d'autres maladies transmissibles par transfusion, mais il s'agit là de complications exceptionnelles voire inexistantes en France métropolitaine.

Tableau 4.2. Protozoaires intracellulaires.

Plasmodium	Phase intra-érythrocytaire	Fréquent
Babesia	Phase intra-érythrocytaire	Rare
Leishmania	Phase intra-érythrocytaire	Rare
Toxoplasma	Phase intra-érythrocytaire	Fugace

Bactéries transmissibles par transfusion

Un sujet en syphilis primaire a une sérologie négative et le tréponème peut survivre 3 à 4 jours dans le sang conservé à + 4°C, mais l'infection est quasi inexistante chez les transfusés. Le contrôle sérologique reste cependant obligatoire sur tout don du sang.

Apparu comme le risque infectieux prépondérant en fréquence, au fur et à mesure que la menace virale était de plus en plus maîtrisée, le risque de contamination bactérienne transfusionnelle, pathologie des plus graves (jusqu'au décès par choc septique), est heureusement influencé par une stratégie préventive spécifique. Ce risque reste néanmoins, à ce jour, au moins 100 fois supérieur à celui d'une contamination par le VIH ou le VHC.

Le sang peut être contaminé par une bactérie au moment du prélèvement : un prélèvement septique au moment de la ponction veineuse (bactérie de la flore commensale, de la préleveuse, de l'environnement), une bactériémie transitoire chez le donneur (ayant pour origine, par exemple, une carie dentaire surinfectée) ou une infection asymptomatique du donneur (tel qu'un syndrome digestif infectieux), peuvent en être la cause ; mais l'infection peut aussi survenir lors de la manipulation du sang au moment ou après le prélèvement. Dans tous les cas, la prolifération microbienne est d'autant plus importante que la chaîne du froid, prescrite par les bonnes pratiques, n'a pas été respectée. Les produits sanguins en cause sont majoritairement les concentrés de globules rouges et les concentrés de plaquettes — avec une fréquence plus élevée pour ces derniers du fait des conditions de conservation à 22°C. La symptomatologie clinique, survenant durant ou au décours immédiat de la transfusion, débute généralement par un frisson violent et une élévation thermique importante. Parfois, des signes spécifiques éveillent l'attention : douleurs abdominales, selles liquides, nausées, vomissements. Puis la tension artérielle s'effondre et un collapsus s'installe.

Ces dernières années, l'incidence des accidents bactériens a été en baisse, sans doute en raison d'une prévention efficace, laquelle inclut un interrogatoire du donneur à la recherche d'une symptomatologie infectieuse, une procédure de désinfection de la peau, l'instauration de dispositifs de prélèvement permettant, au moment du don, la dérive des 15 à 30 premiers millilitres hors de la poche elle-même, l'utilisation transfusionnelle du produit sanguin dans les 6 heures suivant la délivrance et sans interruption de la transfusion, la possibilité qu'a le donneur de contacter le centre préleveur en cas de survenue d'une symptomatologie dans les heures ou les jours qui suivent le don. Le dépistage des produits sanguins bactériémiques à l'aide d'indicateurs colorés ou de la biologie moléculaire n'a pas été instauré en France. Les futures procédures de réduction des agents pathogènes mettront sans doute un terme définitif à ce risque transfusionnel.

Agents transmissibles non conventionnels (ATNC)

Les encéphalopathies subaiguës spongiformes transmissibles (ESST) comprennent un ensemble de pathologies provoquées par des agents transmissibles non conventionnels (ATNC), également dénommés prions. Elles sont caractérisées par une dégénérescence exclusive du système nerveux central et touchent aussi bien l'homme que certaines espèces animales. La maladie de Creutzfeldt-Jakob (MCJ) représente la part majoritaire des ESST humaines : il s'agit d'une pathologie ubiquitaire mais dont l'incidence reste faible (un nouveau cas par an et par million d'habitants). Elle se présente sous trois formes : sporadique, familiale et iatrogène (hormone de croissance d'origine extractive, matériel neurochirurgical insuffisamment décontaminé, greffes de cornée ou de dure-mère). Elle se caractérise par une longue période d'incubation cliniquement silencieuse, suivie de signes neurologiques, avec une évolution fatale dans tous les cas. Le diagnostic de certitude ne peut être apporté que grâce à un ensemble d'arguments associant la clinique, l'examen anatomopathologique *post mortem* du cerveau montrant des lésions de spongiose.

Les ESST sont consécutives à un désordre du métabolisme des protéines conduisant à l'accumulation d'une protéine normale de l'individu (dénommée PrP, pour *Proteinaceous Infectious Particle* ou protéine du prion), particulièrement exprimée par les neurones. Sous l'influence de facteurs encore non identifiés, la protéine normale subit des modifications conformationnelles post-traductionnelles responsables de son accumulation anormale au niveau des neurones, induisant ainsi la neurodégénérescence.

L'identification d'une nouvelle forme de MCJ (vMCJ) en liaison directe avec l'encéphalopathie d'origine bovine a conduit la communauté scientifique à une vigilance redoublée, d'autant que quelques cas de transmission transfusionnelle interhumaine ont été rapportés ces dernières années au Royaume-Uni (aucun cas encore en France, à ce jour). De manière préventive, les autorités françaises de santé ont émis une liste de contre-indications définitives au don de sang, obéissant au principe de précaution, pour trois catégories de donneurs : ceux ayant des antécédents de traitement par des hormones hypophysaires humaines d'origine extractive ou par la glucocérébrosidase placentaire ; ceux ayant eu une contamination iatrogène potentielle par une neurochirurgie intéressant le système nerveux central ou des explorations cérébrales invasives ; ceux ayant des antécédents familiaux d'ESST humaines. Ces contre-indications sont venues en complément de celles mises en place antérieurement, qui avaient pour but d'exclure définitivement du don toute personne ayant des antécédents de transfusion ou de greffe homologue (greffes de cornée, dure-mère, tympan). La réduction du risque potentiel de contamination par les ATNC passe ainsi aujourd'hui par l'exclusion des donneurs à risque, par la pratique systématique de la

leucodéplétion des produits sanguins labiles et par l'exclusion du don des personnes ayant fait un séjour de plus de 12 mois cumulés dans les îles Britanniques entre 1980 et 1996. Aucun test de dépistage adapté aux dons de sang n'est à ce jour disponible.

Risque transfusionnel infectieux actuel

Malgré l'ensemble des mesures de prévention régulièrement introduites pour lutter contre le risque transfusionnel viral (tableau 4.3), notamment vis-à-vis des virus majeurs, il persiste un risque résiduel de transmettre un

Tableau 4.3. Mesures instaurées pour réduire le risque infectieux transfusionnel des produits sanguins labiles.

Agent	Nature du dépistage	Année d'introduction	Caractère
Treponema pallidum	Anticorps	1947	Généralisé
Plasmodium falciparum	Anticorps	1986	Ciblé
VHB	Antigène HBs	1971	Généralisé
	Anticorps anti-HBc Élévation des ALAT	1988 1988	Généralisé* Généralisé*
	ADN viral	2005-2006 2010	Non généralisé* Généralisé
VIH-1	Anticorps	1985	Généralisé
	ARN viral	2001	Généralisé
VIH-2	Anticorps	1989	Généralisé
HTLV-I	Anticorps	1991	Généralisé
VHC	Anticorps	1990	Généralisé
	ARN viral	2001	Généralisé
Variant de la MCJ	Exclusion des donneurs ayant séjourné plus de 12 mois cumulés dans les îles Britanniques entre 1980 et 1996	2000	Ciblé
	ARN	2001	Généralisé
Trypanosoma cruzi	Anticorps	2007	Ciblé
Mesures générales	**Type d'action**	**Année d'introduction**	**Caractère**
Agent non dépisté	Exclusion des donneurs transfusés	1997	Généralisé
Virus intraleucocytaire	Leucodéplétion des produits cellulaires	1998	Généralisé

▷

Arboviroses émergentes	
Chikungunya	Le DGV est pratiqué en Martinique et en Guadeloupe
Dengue	Le DGV est pratiqué uniquement en cas d'épidémie
West Nile Virus	Pas de DGV systématique en métropole sauf dans les cas d'épidémie où il risque d'y avoir des collectes infectantes, en particulier dans le sud de la France

* Suppression en décembre 2003.

virus par transfusion. Ce risque est principalement lié à la fenêtre silencieuse qui sépare la contamination du sujet de la date de mise en évidence des marqueurs dépistés. Toutefois, le risque lié à cette fenêtre a été réduit par l'instauration du DGV, qui recherche désormais les trois virus majeurs dans tous les dons de sang.

La méthode la plus utilisée pour estimer le risque résiduel viral s'appuie sur deux paramètres : la durée (en jours) de la fenêtre silencieuse et le taux d'incidence de l'infection sur une période donnée dans la population des donneurs réguliers.

Le tableau 4.4 fait état du risque transfusionnel résiduel vis-à-vis des quatre agents viraux dont les marqueurs ont été dépistés sur chaque don de sang, au cours de la période d'observation.

D'une manière générale, l'estimation du risque de contamination transfusionnelle par un agent infectieux est à considérer en fonction du risque pour le receveur de développer une pathologie compromettant à court terme sa qualité de vie, voire son pronostic vital. En tout état de cause, les agents infectieux transmissibles par le sang peuvent être répartis en trois catégories principales :

- ceux qui font l'objet d'un dépistage spécifique, que ce dernier soit généralisé à l'ensemble des dons de sang (*Treponema pallidum*, VHB, VHC, VIH, HTLV-I) ou qu'il soit ciblé sur certains donneurs que l'entretien médical

Tableau 4.4. Risque transfusionnel résiduel vis-à-vis des quatre virus de transmissibilité transfusionnelle et dépistés systématiquement*.

Virus	Durée moyenne estimée de la fenêtre silencieuse	Risque résiduel sur la période 2007-2009	Nombre estimé de dons infectés (sur 3 millions de dons/an)
VIH	12 jours**	1/3 000 000	1 par an
VHB	38 jours	1/1 100 000	2 à 3 par an
VHC	10 jours**	1/10 000 000	1 tous les 3 ans
HTLV	51 jours	1/6 000 000	1 tous les 2 ans

* Source : InVS.

** Avec le DGV effectué en pool lors de la période considérée.

précédant le don de sang fait considérer comme « à risque » (*Plasmodium falciparum*, agent du paludisme, et *Trypanosoma cruzi*, agent de la maladie de Chagas) ou encore qu'il soit ciblé sur des produits sanguins destinés à certains receveurs (produits dépourvus de l'anticorps anti-CMV pour les transfusés immunodéprimés) ;

- ceux qui ne font pas l'objet d'un dépistage biologique, car le risque lié à leur pathogénicité n'a pas été considéré comme imposant une telle prévention : il s'agit du risque bactérien (lequel est combattu par des mesures préventives cliniques) et du risque lié à des agents tels que le parvovirus B19 et les virus des hépatites à transmission parentérale (VHA, VHE) ;
- les agents émergents susceptibles de comporter une menace transfusionnelle en période épidémique (*Coxiella burnetii*, *West Nile Virus*, chikungunya).

4.2 Accidents de la transfusion

Les accidents de la transfusion peuvent être classés selon différents critères, notamment selon leur délai d'apparition, ce qui permet de répondre aux exigences définies par le système déclaratif d'hémovigilance : les accidents « immédiats », apparus dans les 8 jours suivant la pose de la transfusion, et les accidents « retardés », apparus au-delà de ces 8 jours.

Ils peuvent aussi être classés selon leur mécanisme, ce qui permet de réaliser le bilan d'investigation le plus approprié : accidents immunologiques et/ou immunoallergiques ; accidents non immunologiques, aux premiers rangs desquels figurent les accidents infectieux et de surcharge.

Ils peuvent enfin être classés selon l'origine, ce qui permet d'évaluer le rapport bénéfice/risque de la thérapeutique transfusionnelle : accidents intrinsèques ou accidents extrinsèques.

- Les *accidents intrinsèques* (propres au produit sanguin lui-même) sont spécifiques aux produits sanguins labiles, indépendamment de leurs conditions d'utilisation. Ils sont liés à la présence d'un micro-organisme (bactérie, virus, parasite, agent transmissible non conventionnel) non détecté ou non détectable dans le produit et n'ayant pu être éliminé par les techniques de préparation utilisées. Ce sont des accidents désormais rares, voire exceptionnels.
- Les *accidents extrinsèques* sont dépendants des conditions d'utilisation des produits sanguins labiles. Ils sont liés soit à une mauvaise utilisation du produit (erreur de prescription, de délivrance ou de transfusion) soit à un choix de produit non adapté aux caractéristiques du receveur. Ce sont des accidents toujours possibles, voire fréquents. Ils incluent les accidents immuno-hémolytiques, les accidents d'allo-immunisation, les accidents allergiques et les accidents de surcharge.

Grâce au dispositif d'hémovigilance mis en place en 1994, les effets indésirables receveurs (EIR) ou « accidents de la transfusion » sont désormais mieux connus (par leur déclaration), mieux évalués (par l'investigation qu'ils entraînent) et mieux suivis (par la prévention qui en découle). Ainsi, en 2013, le taux moyen de déclaration (de grades 1 à 4) est de 150 pour 10 000 patients transfusés (ou 276 pour 100 000 PSL cédés), ce qui correspond à un taux relativement stable depuis plusieurs années. Les trois principales orientations diagnostiques qui se dégagent des 6 715 déclarations d'EIR en enquête terminée restent, par ordre de fréquence :

- l'allo-immunisation isolée (54,8 % de l'ensemble des EIR) ;
- la réaction fébrile non hémolytique (RFNH) (30,6 %) ;
- l'allergie (14,6 %).

Un des intérêts de ce dispositif est de pouvoir estimer la fréquence des principaux accidents de la transfusion (tableau 4.5) et d'en cibler les tendances à la hausse (tableau 4.6) afin de mieux les prévenir.

Tableau 4.5. Évolution du nombre des « effets indésirables receveurs » (de grade 1 à 4 et d'imputabilité 2 à 4).

Nombre d'« effets indésirables receveurs » pour 10 000 produits sanguins labiles	Diagnostic
5,7	Réactions fébriles non hémolytiques
5,6	Apparitions d'anticorps irréguliers
5,4	Allergies
1,1	Incompatibilités immunologiques
0,8	Surcharges volémiques
0,3	Infections virales
0,1	TRALI
0,1	Infections bactériennes

Données Afssaps, rapport annuel : Hémovigilance 2008.

Tableau 4.6. « Effets indésirables receveurs » de grade 3-4 et d'imputabilité 3-4, comparaison des périodes 2001-2004 et 2005-2008.

Nombre d'« effets indésirables receveurs » pour 100 000 produits sanguins labiles			Diagnostic
	2001-2004	2005-2008	
En hausse	2,01	2,25	Surcharges volémiques
	0,35	0,63	TRALI
Stable	1,29	1,17	Allergies
En baisse	0,60	0,26	Incompatibilités immunologiques
	0,14	0,13	Infections bactériennes
	0,19	0,02	Réactions fébriles non hémolytiques

Données Afssaps, rapport annuel : Hémovigilance 2008.

Accidents intrinsèques

Tout micro-organisme non détecté ou non détectable présent dans le sang d'un donneur est potentiellement transmissible à un receveur. Toutefois, la diminution croissante des accidents intrinsèques est liée à un trépied sécuritaire, reposant sur une sélection médicale rigoureuse des candidats au don, l'amélioration constante des tests réglementaires (tableau 4.7) et l'introduction régulière de nouvelles mesures sécuritaires tenant compte du contexte sanitaire.

Accidents bactériens

Les germes fréquemment rencontrés avec les concentrés érythrocytaires sont des germes à Gram négatif (klebsielles). Avec les concentrés plaquettaires, la variabilité des souches bactériennes est plus importante, mais dominée par les Gram-positifs (staphylocoque). Il n'existe plus de cas de syphilis post-transfusionnelle depuis de nombreuses années. L'expression clinique de l'accident bactérien reste variable, du simple syndrome frissons-hyperthermie au choc septique ou endotoxinique apparaissant dès les premiers millilitres de produit transfusé, et dont le pronostic est très réservé (décès dans 15 à 30 % des cas). Bien que ces accidents soient rares, il s'agit du principal risque infectieux en termes de fréquence et de gravité. Il est estimé à 1,3 pour 1 000 000 de produits sanguins labiles transfusés (données Afssaps).

Accidents viraux

Le risque de transmission transfusionnelle des trois virus pathogènes « majeurs » (VIH, VHC et VHB) a été considérablement réduit au cours des deux dernières décennies. Certains virus transfusionnels sont peu pathogènes chez le sujet sain, mais peuvent être redoutables chez des patients

Tableau 4.7. Tests réglementaires actuels Des tests supplémentaires sont réalisés en cas de séjour en zone d'endémie : sérologie du paludisme (depuis 1986) et sérologie de la maladie de Chagas (depuis 2007).

Agents pathogènes	Années de mise en place du test de dépistage
Syphilis	1947
Antigène HBs	1971
Anticorps anti-VIH	1985 (VIH-1) 1989 (VIH-2)
Anticorps anti-HBc	1988
Anticorps anti-VHC	1990
Anticorps anti-HTLV-I	1991
Dépistage génomique du VHC et VIH	2001

immunodéprimés, comme le cytomégalovirus (CMV), le virus d'Epstein-Barr (EBV) ou le parvovirus B19. Pour les virus intraleucocytaires tels que le CMV, l'EBV, l'HHV-8 (herpèsvirus) ou l'HTLV-I (virus T lymphotrope humain), la déleucocytation systématique des produits sanguins labiles a permis une bonne prévention. Par ailleurs, certains virus émergents, comme le *West Nile Virus*, le virus du chikungunya ou le virus de la dengue, constituent parfois autant de nouvelles préoccupations.

Les conséquences cliniques et/ou biologiques vont de la mise en évidence de la présence d'un marqueur viral dans le sang du receveur (lors d'un dépistage post-transfusionnel) à l'expression clinique et/ou biologique de la présence de ce virus (hépatites aiguës ou chroniques, cirrhose, cancer du foie, etc.). Le risque résiduel dépend du taux d'incidence de l'infection chez les donneurs de sang et de la durée moyenne de la « fenêtre sérologique », laquelle correspond à la période durant laquelle le sang est potentiellement infectieux, alors que les marqueurs sérologiques dépistés en routine ne sont pas encore détectables (cas d'une infection toute récente).

Accidents parasitaires

Les principaux parasites impliqués sont le *Plasmodium*, notamment *P. falciparum* (agent du paludisme), et le *Trypanosoma cruzi* (agent de la maladie de Chagas). Le premier est transmissible par transfusion, mais il s'agit, en France métropolitaine, d'un événement exceptionnel : deux cas de paludisme post-transfusionnel ont été signalés en 2002 et en 2007, aucun en 2012. En raison de son caractère souvent asymptomatique, la maladie de Chagas constitue une préoccupation transfusionnelle en Amérique du Sud et en Amérique centrale. Aucun cas de transmission transfusionnelle n'a été rapporté en France.

Accidents liés aux agents transmissibles non conventionnels

Quatre cas de transmission transfusionnelle du nouveau variant de la maladie de Creutzfeldt-Jakob ont été rapportés chez des patients transfusés au Royaume-Uni. Le risque n'est donc plus hypothétique, même si aucun cas n'a encore été déclaré en France.

Accidents extrinsèques

Les accidents extrinsèques sont les plus fréquents et sont actuellement en hausse. Le respect des bonnes pratiques transfusionnelles et l'application des recommandations de consensus professionnel doivent permettre de les réduire de manière significative.

Accidents immuno-hémolytiques

Ces accidents mettent particulièrement en cause l'erreur humaine. Ces défaillances multifactorielles sont principalement liées au nombre important d'intervenants de la chaîne transfusionnelle, à la complexification des tâches, notamment en service de soins, et à une certaine inertie face au changement. On distingue les trois types d'accidents suivants.

Accidents liés au système érythrocytaire

Ils sont dus à un conflit antigènes-anticorps impliquant les globules rouges et aboutissant à leur destruction. Trois mécanismes sont possibles :

- le plus fréquent : les anticorps sont présents dans le plasma du receveur et les antigènes sont apportés par la transfusion de globules rouges. Ces anticorps peuvent être naturels et réguliers (incompatibilité érythrocytaire ABO), immuns et irréguliers (allo-immunisation antiérythrocytaire méconnue anti-RH, KEL, FY, JK, MNS, etc.), voire dirigés contre des antigènes publics naturels (anti-H des sujets Bombay) ;
- plus rarement : les anticorps sont apportés dans le plasma transfusé et les antigènes sont présents sur les globules rouges du receveur (cas des donneurs dits « dangereux » ou de la transfusion massive de plasma incompatible) ;
- exceptionnellement : les anticorps sont apportés dans le plasma transfusé et les antigènes sont apportés par les globules rouges transfusés.

La traduction clinique de ces conflits antigène-anticorps est polymorphe : du syndrome frissons-hyperthermie, en passant par l'inefficacité transfusionnelle, jusqu'au choc hémolytique pouvant aboutir au décès.

Accidents liés au système leuco-plaquettaire

Ils sont dus principalement à deux types d'anticorps, les anticorps anti-HLA et les anticorps anti-HPA :

- les antigènes HLA sont présents sur pratiquement toutes les cellules nucléées de l'organisme, en particulier sur la membrane des lymphocytes et des plaquettes. L'allo-immunisation peut être soit liée à des grossesses soit post-transfusionnelle par l'apport de lymphocytes ou, le plus souvent, de plaquettes. En cas de transfusions itératives, ces anticorps peuvent être dirigés contre les leucocytes (le risque majeur étant la survenue d'un œdème pulmonaire lésionnel post-transfusionnel ou TRALI, cf. encadré) ou contre les plaquettes, se traduisant alors soit par une réaction frissons-hyperthermie, soit par un état réfractaire à la transfusion plaquettaire ;
- les antigènes HPA sont spécifiques des plaquettes. Certains patients développent par allo-immunisation des anticorps anti-HPA. En cas de transfusion, ces anticorps détruisent les plaquettes incompatibles mais aussi les plaquettes compatibles du receveur par fixation de complexes immuns. Cette situation peut se traduire par un état réfractaire aux transfusions de plaquettes, voire à un purpura post-transfusionnel (cf. encadré).

Accidents immuno-hémolytiques liés au système leuco-plaquettaire

Œdème pulmonaire lésionnel post-transfusionnel (*Transfusion-Related Acute Lung Injury*, TRALI)

Cet accident, lié à l'apport d'anticorps anti-leucocytes par un produit sanguin labile (concentré érythrocytaire, plasma thérapeutique, concentré plaquettaire) peut mettre en jeu le pronostic vital. Sa fréquence de déclaration est en hausse ces dernières années. Il s'agit d'un état de détresse respiratoire aiguë, avec hypoxémie associée à un œdème pulmonaire, avec infiltrats alvéolaires et interstitiels bilatéraux diffus. Le tableau clinique et paraclinique s'installe 4 à 6 heures après la transfusion, avec fièvre et hypertension.

Purpura post-transfusionnel

Cette thrombopénie profonde et brutale apparaît 5 à 12 jours après une transfusion, en général chez une femme ayant des antécédents transfusionnels ou de grossesses. Le diagnostic biologique repose sur le groupage plaquettaire et la recherche d'anticorps anti-HPA. En l'absence de syndrome hémorragique grave, l'évolution est spontanément favorable en quelques semaines.

Accidents liés aux cellules immunocompétentes

Il s'agit de la réaction dite du greffon contre l'hôte, ou *Graft versus Host* (GVH). Deux conditions sont nécessaires à son apparition : la présence de lymphocytes T viables dans le produit sanguin labile transfusé et l'incapacité, pour le receveur, de rejeter immunologiquement ces cellules allogéniques transfusées (prématuré, déficit immunitaire, traitement immunosuppresseur). La GVH peut prendre deux formes cliniques : une forme différée, toujours très grave, constituée d'une diarrhée incoercible, d'une atteinte hépatique, d'une altération de l'état général aboutissant au décès en quelques semaines ; une forme chronique, qui se manifeste par une diarrhée, une érythrodermie bulleuse, mais connaît une évolution réversible en quelques semaines. Cet accident est devenu rarissime grâce à la prévention (irradiation des produits sanguins labiles destinés aux receveurs à risque et déleucocytation systématique de tous les produits sanguins labiles).

Accidents d'allo-immunisation

L'allo-immunisation concerne les systèmes érythrocytaires lors de la transfusion de concentrés de globules rouges, mais aussi les systèmes HLA et HPA lors de la transfusion de concentrés plaquettaires. Elle peut être d'origine transfusionnelle, par incompatibilité volontaire ou involontaire, mais aussi

survenir lors de greffes ou, plus fréquemment, de grossesses. Sa non-prise en compte aboutira à certains des accidents immuno-hémolytiques vus précédemment.

Le non-respect des systèmes antigéniques les plus communs lors d'une transfusion de concentrés érythrocytaires (systèmes RH et KEL) peut entraîner l'apparition d'alloanticorps : l'allo-immunisation contre des antigènes du système JK, FY ou MNS survient plus rarement (les antigènes de groupes sanguins les plus immunogènes étant D, K, E, c, Fy^a, Jk^a, S). L'allo-immunisation anti-HLA et, plus exceptionnellement, anti-HPA survient après des transfusions plaquettaires.

L'incidence de l'allo-immunisation, quel que soit le PSL, est de 69,8 pour 100 000 unités cédées (d'imputabilité 2 et 3 ; rapport ANSM 2013).

Accidents allergiques

Les réactions allergiques représentent près d'un quart des déclarations d'effets indésirables receveurs (14,3 % des effets indésirables d'imputabilité 1 à 3 en 2013). Pour autant, dans plus de 90 % des cas, il s'agit de signes cutanés isolés. Plusieurs mécanismes sont à distinguer :

- un conflit immunologique IgA et anticorps anti-IgA (déficit de classe, de sous-classe ou d'épitope) ;
- un conflit immunologique dû à un allergène : malade allergique recevant un produit sanguin labile contenant un allergène contre lequel il est sensibilisé (allergie vraie) ; malade ayant un allergène réagissant avec des IgE apportées par un produit sanguin labile ;
- le transfert passif de complexes immuns (IgE/allergènes) ou de complément activé (C3a, C5a).

En règle générale, on observe, au cours ou au décours immédiat d'une transfusion, des réactions bénignes de type rougeur de la peau, prurit, urticaire, frissons-hyperthermie. De telles réactions, dont la fréquence est importante, cèdent rapidement aux antihistaminiques. Très exceptionnellement, ce sont des réactions plus graves : crise d'asthme, œdème de Quincke, œdème de la glotte ou choc anaphylactique. Dans ces derniers cas, la prévention est fondée sur la transfusion de produits sanguins labiles déplasmatisés. La survenue d'un accident allergique tous grades confondus est estimée à 18,5 pour 100 000 produits sanguins transfusés. Ce type d'accident apparaît dès lors parmi les plus fréquents, mais avec une stabilisation au cours des dernières années.

Accidents de surcharge

Surcharge volémique

L'augmentation brutale du volume sanguin est mal tolérée chez les insuffisants cardiaques ou respiratoires, les sujets âgés et les enfants. Dès les

signes d'alarme (dyspnée, quinte de toux, cyanose), il faut interrompre immédiatement la transfusion, faute de quoi une crise d'œdème aigu du poumon (OAP) peut se déclencher et être mortelle. Dans toutes les situations où un tel accident est susceptible de se produire, il importe de prendre les précautions dans la durée et le volume de la transfusion, et de surveiller de près le déroulement de la transfusion. La survenue d'une surcharge volémique est estimée, dans les données d'hémovigilance de l'ANSM, à 6,1 pour 100 000 produits sanguins labiles transfusés, ce qui constitue un des accidents les plus fréquents, avec une tendance à la hausse ces dernières années.

Surcharge ferrique ou hémochromatose

Les transfusions répétées entraînent une accumulation de fer dans certains organes (foie, cœur et pancréas), responsable d'une hémochromatose secondaire (un litre de sang transfusé apporte 500 mg de fer). Chez les malades polytransfusés chroniques (thalassémiques) apparaissent des complications à type d'insuffisance hépatique, d'insuffisance cardiaque et de diabète. Un traitement chélateur du fer est indispensable, l'hémochromatose transfusionnelle constituant chez ces patients une cause fréquente de décès (47 EIR déclarés en 2013 d'imputabilité 2 et 3 dont quatre de grade 3).

Conclusion

Les accidents extrinsèques de la transfusion sont aujourd'hui les plus fréquents. Les accidents immuno-hémolytiques sont souvent liés à une défaillance d'un ou plusieurs maillons de la chaîne transfusionnelle, l'accident ABO en étant la traduction la plus spectaculaire et annuellement reproduite. Les accidents d'allo-immunisation doivent être analysés au regard des besoins croissants en produits sanguins labiles, du vieillissement de la population et de l'évolution des recommandations professionnelles. Les accidents allergiques, au demeurant stables au fil des années, doivent influencer sur le choix des caractéristiques des produits sanguins labiles et des techniques de préparation. Enfin, les accidents de surcharge, notamment volémique, doivent inciter à une meilleure maîtrise quantitative de la prescription.

Actuellement, les accidents les plus fréquents sont les surcharges volémiques, les allergies et les TRALI. Les accidents les plus graves sont le choc anaphylactique, le choc septique ou endotoxinique, et le syndrome de détresse respiratoire aiguë dû à un œdème pulmonaire lésionnel. Ces accidents sont généralement d'expression clinique immédiate : ils apparaissent dès le début de la transfusion, d'où l'intérêt d'une surveillance clinique étroite pendant les 15 premières minutes.

4.3 Hémovigilance

La sécurité transfusionnelle est née avec la transfusion sanguine. De tout temps, avant le XXe siècle comme de nos jours, la première a toujours régulé le recours à la seconde au gré des progrès scientifiques et techniques. Sur le long terme, cette régulation a bien fonctionné avec une transfusion de plus en plus sûre au fil des années. Sur le court terme, le choc sanitaire et sociétal qu'a représenté l'émergence du VIH est venu montrer les limites de cette régulation qui reposait sur le partage spontané des connaissances entre les professionnels et sur leur sens des responsabilités. Il est alors apparu qu'il fallait organiser la sécurité transfusionnelle. La loi n° 93-5 du 4 janvier 1993 a créé l'hémovigilance et le décret d'application n° 94-68 du 24 janvier 1994 l'a définie. À la suite de la loi n° 98-535 du 1er juillet 1998 qui a créé l'Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé (Afssaps), le décret n° 99-150 du 4 mars 1999 a chargé celle-ci de l'organisation et de la gestion de l'hémovigilance. Ce besoin d'organisation a également été décliné par la Commission européenne à travers les directives 2002/98/CE et 2005/61/CE, qui ont donné lieu à une transposition en France avec le décret n° 2006-99 du 1er février 2006 et la décision du directeur général de l'Afssaps du 6 novembre 2006. Le décret n° 2014-1042 du 12 septembre 2014 vient compléter et mettre à jour cet ensemble documentaire.

Au cours de cette intense activité juridique, la définition de l'hémovigilance a légèrement fluctué. Sa formulation actuelle dans le Code de la santé publique est la suivante.

> **Code de la santé publique**
> **L. 1221-13. –** L'hémovigilance a pour objet l'ensemble des procédures de surveillance et d'évaluation des incidents, ainsi que des effets indésirables survenant chez les donneurs ou les receveurs de produits sanguins labiles. Elle porte sur l'ensemble de la chaîne transfusionnelle allant de la collecte des produits sanguins labiles jusqu'au suivi des receveurs. L'hémovigilance comprend également le suivi épidémiologique des donneurs. (…)

Champ de l'hémovigilance

L'équation « effets indésirables + incidents = événements indésirables » définit le champ de l'hémovigilance et appelle les définitions suivantes :

- l'« effet indésirable » est une réaction nocive survenue chez les donneurs et liée ou susceptible d'être liée aux prélèvements de sang, ou survenue chez les receveurs et liée ou susceptible d'être liée à l'administration d'un produit sanguin labile ;
- l'« incident » est l'incident lié aux prélèvements de sang, à la qualification biologique du don, à la préparation, à la conservation, à la distribution, à la

délivrance ou à l'utilisation de produits sanguins labiles, dû à un accident ou une erreur, susceptible d'affecter la sécurité ou la qualité de ce produit et d'entraîner des effets indésirables.

Le processus d'hémovigilance peut donc être aisément scindé en trois sous-processus :

- la surveillance et l'évaluation des « effets indésirables donneurs » (EID) ;
- la surveillance et l'évaluation des « effets indésirables receveurs » (EIR) ;
- la surveillance et l'évaluation des « incidents » (souvent appelés « incidents de la chaîne transfusionnelle » ou ICT).

Il est à noter qu'un événement indésirable peut cumuler un effet indésirable et un incident. Bien que cette scission soit moins aisée que la précédente, il apparaît de plus en plus que le sous-processus des ICT gagnerait à être dédoublé selon que le fait générateur est un « accident » ou une « erreur ». Selon le dictionnaire *Larousse*, l'accident est un événement fortuit ou inattendu alors que l'erreur est l'acte de se tromper. Si on comprend facilement qu'une erreur puisse affecter la sécurité ou la qualité d'un PSL, il faut admettre qu'un accident « sans erreur » puisse le faire aussi.

C'est en partie sur ce distinguo qu'un quatrième sous-processus de l'hémovigilance s'est individualisé plus récemment : la surveillance et l'évaluation des informations post-don (IPD), qui ne va comprendre que des « accidents ». Une description de son contenu peut être proposée à partir du moment de survenue de cette information par rapport au don de sang :

- l'information apparaît lors de la sélection médicale d'un don (entraînant souvent le refus de ce don) et remet en cause le ou les dons précédents ;
- le don a lieu normalement mais une anomalie va apparaître lors de son traitement (en qualification, en préparation ou au contrôle de qualité) entraînant sa destruction mais remettant en cause éventuellement le ou les dons précédents ;
- le don a eu lieu et a été traité normalement mais le donneur (ou un proche) va informer l'établissement de transfusion sanguine (ETS) qu'une anomalie de santé vient de le toucher qui remet en cause le don en question, voire les précédents ;
- le don a eu lieu, a été traité et a été utilisé normalement mais le receveur d'un des produits sanguins labiles issus de ce don présente un effet indésirable receveur qui remet en cause le don, voire les précédents.

L'hémovigilance est associée depuis sa création à de nombreuses tâches qui vont permettre de donner de la consistance à sa mission d'évaluation en allant au-delà d'une simple surveillance, comme la traçabilité de la délivrance des produits sanguins labiles ; la gestion des dépôts de sang des établissements de soins (ES) et des flux de produits sanguins labiles entre ES et ETS ; la mise en œuvre des échanges de données informatisés entre ES et ETS ; la gestion de l'ensemble des données de la chaîne transfusionnelle ; la gestion des enquêtes transfusionnelles ; l'analyse de la pertinence des

transfusions sanguines ; la coordination de l'ensemble des vigilances ; la veille scientifique et technique.

Fonctionnement de l'hémovigilance

Sous-processus « Effets indésirables donneurs »

Même si la définition originelle de l'hémovigilance incluait bien la surveillance du prélèvement, ce sous-processus ne s'est vraiment structuré qu'avec la décision du directeur général de l'Afssaps du 7 mai 2007. Son champ y a été limité aux effets indésirables donneurs « graves » pour plusieurs raisons : la fréquence élevée des effets indésirables donneurs, affectant entre 3 et 10 % des dons dans la littérature ; la bénignité associée à plus de 95 % de ces effets indésirables donneurs ; la consolidation européenne des données de l'hémovigilance qui ne s'intéresse qu'aux effets indésirables donneurs graves.

Dans le texte réglementaire, la définition de cette gravité est la suivante : « Un effet indésirable grave est un effet indésirable entraînant la mort ou mettant la vie en danger, entraînant une invalidité ou une incapacité, ou provoquant ou prolongeant une hospitalisation ou tout autre état morbide. » Une nouvelle décision du directeur de l'Afssaps du 1er juin 2010 a remplacé celle de 2007 et a considérablement modifié et précisé les critères de gravité.

L'effet indésirable donneur grave peut être « immédiat », survenant en présence du personnel de l'ETS, ou « retardé », quand le donneur a quitté la séance de prélèvement. Dans tous les cas, le personnel de l'ETS ayant connaissance de l'effet indésirable donneur doit le signaler au correspondant d'hémovigilance en vue d'une enquête et d'une déclaration éventuelle. Celle-ci sera faite conjointement à l'ANSM (l'Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé, qui a succédé à l'Afssaps), à l'Établissement français du sang (EFS) ou au Centre de transfusion des armées (CTSA), et au coordonnateur régional d'hémovigilance (CRH) concerné. Cette déclaration se fait au moyen d'une fiche normalisée, initialement papier, désormais électronique. Une trace en est conservée dans le dossier du donneur.

Sous-processus « Effets indésirables receveurs »

Dès le premier texte d'application de l'hémovigilance en 1994, la surveillance des effets indésirables receveurs a été au centre de son activité ; de 1994 à 2006, ces effets s'appelaient des incidents transfusionnels ; à partir de la transposition des textes européens dans le décret du 1er février 2006, qui a utilisé le terme « incident » avec un autre sens en hémovigilance, il est devenu impératif de respecter cette nouvelle appellation. Le texte en vigueur qui la définit est la décision du directeur général de l'Afssaps du 5 janvier 2007. Depuis le début, c'est l'ensemble des effets indésirables receveurs, quel que soit leur degré de gravité, qui rentre dans le champ du

sous-processus. De très nombreux pays n'ont mis en place qu'une surveillance des effets indésirables receveurs « graves » et, en conséquence l'Europe ne consolide que les données relatives à ces derniers. L'hémovigilance française reste donc une des seules organisations nationales à pouvoir fournir des données exhaustives en la matière.

Ici aussi, l'effet indésirable receveur peut être « immédiat », s'il survient dans les 8 jours qui suivent l'acte transfusionnel, ou « retardé » s'il survient au-delà. Son signalement est fait par le personnel de l'ES ou de l'ETS auprès du correspondant d'hémovigilance. L'enquête est faite de concert par les hémovigilants de l'ES et de l'ETS, pour aboutir, le cas échéant, à une déclaration conjointe à l'ANSM, à l'EFS/CTSA et au coordonnateur régional d'hémovigilance concerné. Une trace en est conservée dans le dossier transfusionnel du receveur.

À partir de 1996, les déclarations papiers ont été saisies dans une base de données électronique nationale (GIFIT). En 2004, une application ouverte à l'ensemble du réseau d'hémovigilance, *via* une interface Internet, s'est substituée en reprenant tous les effets indésirables receveurs survenus à partir de 2000. La décision du 5 janvier 2007 ne reconnaît désormais plus comme officielles que cette déclaration électronique et la fiche qui en est issue (FEIR). C'est autour de cette plate-forme baptisée *e-FIT* que se construit, au fil du temps, un outil déclaratif unique pour l'ensemble des sous-processus de l'hémovigilance.

Sous-processus « Incidents de la chaîne transfusionnelle »

La publication de la décision du directeur général de l'Afssaps du 7 mai 2007 (publiée le même jour que celle relative aux effets indésirables graves chez les donneurs) relative à la déclaration des incidents graves marque un tournant majeur de l'hémovigilance. Jusqu'alors, l'enquête d'hémovigilance se faisait *a posteriori* par rapport à l'effet indésirable. Son objectif de prévention ne concernait donc plus que des événements à venir, même si l'enquête révélait que l'épisode initial était « évitable ». En décidant désormais de travailler sur les « erreurs », l'hémovigilance se donne enfin les moyens d'intervenir en amont des effets indésirables évitables.

La déclaration de deux cas de figure de ce sous-processus avait déjà été mise en place : quand l'enquête autour d'un effet indésirable, donneur ou receveur, révélait la présence d'un dysfonctionnement, ce dernier était déclaré en complément de la déclaration d'EI correspondante ; depuis 2002, une catégorie particulière d'effet indésirable receveur, dit de « grade 0 », permettait de déclarer les transfusions de produits sanguins labiles inappropriés n'ayant pas provoqué d'effet indésirable receveur, en y associant une déclaration d'incident.

Ces deux situations particulières sont désormais complétées par toutes celles où un accident ou une erreur aurait pu conduire à un effet indésirable donneur ou receveur. Pour à peu près les mêmes raisons que celles évoquées pour les effets indésirables donneurs, seuls les incidents de la chaîne transfusionnelle « graves » doivent faire l'objet d'une déclaration, c'est-à-dire ceux qui pourraient être liés à un effet indésirable donneur ou receveur « grave ». Ici aussi, l'analyse de ce critère de gravité s'avère assez complexe et cela a conduit l'ANSM à publier une nouvelle décision le 24 décembre 2010, plus détaillée et plus précise. Il est à noter que ce sous-processus a vu la gravité traditionnelle attachée aux personnes, donneur ou receveur, s'incrémenter d'une gravité de type « sociétale », prenant en compte les éventuels effets indirects de la médiatisation d'un événement singulier.

Plus encore que dans les sous-processus relatifs aux effets indésirables donneurs ou receveurs, dont les événements sont, hélas !, loin d'être toujours évitables, l'ambition de la surveillance des incidents de la chaîne transfusionnelle est d'en prévenir la répétition. C'est pour cette raison que l'enquête d'hémovigilance va se concentrer sur l'analyse des causes de l'incident, en recherchant « la ou les étapes défaillantes et la ou les causes de défaillance », ainsi que sur les mesures correctrices ou préventives éventuellement prises.

Il revient au professionnel de santé de l'ES ou de l'ETS qui découvre l'incident de le signaler à son correspondant d'hémovigilance. Si les défaillances révélées par l'enquête sont survenues là où l'incident a été observé, la déclaration sera faite par le seul hémovigilant concerné. Si les défaillances sont survenues d'un côté, ES ou ETS, et que l'incident a été observé de l'autre, les deux correspondants d'hémovigilance déclareront ensemble. Comme à chaque fois, cette déclaration sera adressée à l'ANSM, à l'EFS/CTSA et au coordonnateur régional d'hémovigilance concerné, au moyen d'une fiche normalisée, initialement papier, désormais électronique. Chaque intervenant conserve la trace de cette déclaration.

Sous-processus « Informations post-don »

Ce sous-processus commence tout juste à faire l'objet d'une caractérisation réglementaire, même si des déclarations sont faites par les ETS auprès de l'ANSM depuis 2002. Le décret n° 2014-1042 du 12 septembre 2014 l'identifie pour la première fois, à côté des autres sous-processus de l'hémovigilance. Il devrait donner lieu rapidement à la publication d'une décision de l'ANSM qui en fixera le cadre déclaratif. L'information post-don est définie comme une « information concernant le donneur ou le don, découverte après un don et susceptible de compromettre la qualité ou la sécurité des produits sanguins issus de ce don ou de dons antérieurs ».

Le délai qu'il aura fallu avant d'arriver à un règlement finalisé ne doit pas masquer l'importance sécuritaire de ce sous-processus. Il arrive malheureusement que la nature de l'information post-don, notamment infectieuse,

rende les produits sanguins labiles issus du don dangereux pour les receveurs s'ils ne sont pas bloqués avant leur utilisation. Il est même arrivé qu'un deuxième effet indésirable receveur de type infectieux atteigne un second receveur parce que le blocage des produits sanguins labiles issus d'un don n'a pas été assez rapide après la survenue d'un premier effet indésirable sur un premier receveur.

Un type d'information post-don fait l'objet d'une déclaration particulière depuis plus longtemps. Il s'agit des cas de séropositivité et de séroconversion du donneur découverts lors de la qualification biologique des dons. Dans le cadre du suivi épidémiologique des donneurs de sang, qui fait partie de l'hémovigilance, ces cas sont déclarés par les ETS auprès de l'EFS/CTSA et de l'Institut de veille sanitaire (InVS).

Acteurs directs de l'hémovigilance

Acteurs locaux

Chaque ES qui transfuse nomme un correspondant d'hémovigilance ES. C'est vers lui que convergent les signalements d'hémovigilance. Il a la charge de les analyser et de procéder, le cas échéant, à une déclaration de l'événement, le plus souvent avec l'aide de son homologue de l'ETS.

Les opérateurs de la transfusion sanguine, EFS et CTSA, doivent avoir défini localement un correspondant d'hémovigilance ETS qui sera l'interlocuteur de l'hémovigilant ES, avec la même fonction d'analyse à partir d'un signalement pour aboutir à une déclaration.

Les hémovigilants ES et ETS se retrouvent au sein du Comité de sécurité transfusionnelle et d'hémovigilance pour y présenter un bilan annuel de l'hémovigilance locale. Avec les autres professionnels de santé présents, ils y contribuent à améliorer la sécurité transfusionnelle locale. L'organisation et la dénomination de ce comité ont pu varier au fil du temps et selon les structures ; la tendance actuelle est de le rapprocher des autres systèmes de vigilance.

Acteurs régionaux

Dans chaque région, un ou plusieurs coordonnateurs régionaux d'hémovigilance, placés auprès des agences régionales de santé (ARS), organisent et surveillent le bon fonctionnement de l'hémovigilance. Chaque EFS régional est doté d'un correspondant d'hémovigilance EFS régional qui encadre les hémovigilants ETS locaux et assume la responsabilité du bon fonctionnement de l'ensemble.

Acteurs nationaux

L'ANSM a la responsabilité de l'hémovigilance, comme celle de la plupart des vigilances. Elle est l'interlocuteur des instances européennes pour la

consolidation des données que celles-ci opèrent dans le domaine. Elle s'appuie sur les réflexions de plusieurs groupes de travail et d'un comité technique.

La Commission nationale d'hémovigilance mise en place par l'Afssaps au regard du décret de 2006 a eu pour mission de s'assurer, notamment à partir des données qui remontent du réseau d'hémovigilance, de la progression effective de la sécurité transfusionnelle. Pour ce faire, la Commission nationale d'hémovigilance s'est appuyée sur les réflexions de plusieurs groupes de travail généralistes ou spécifiques. Cette commission n'a pas été reconduite lors de la création de l'ANSM. Un comité technique d'hémovigilance a été créé en mai 2013 par décision du directeur général de l'ANSM.

L'EFS et le CTSA consolident à leur niveau les informations d'hémovigilance générées aux échelons locorégionaux. Ils sont les interlocuteurs privilégiés de l'ANSM pour travailler à l'évolution du dispositif et de son fonctionnement. Désormais, la commission *ad hoc* est placée sous la responsabilité de la commission médicale d'établissement (CME) depuis 2014.

Résultats de l'hémovigilance

L'ANSM publie chaque année un bilan de l'hémovigilance qui est en accès libre sur son site Internet (www.ansm.fr). Les principales données de l'hémovigilance française s'y trouvent, dont le tableau 4.8 présente quelques éléments clefs pour l'année 2013.

Tableau 4.8. Principales données de l'hémovigilance pour l'année 2013.

Effets indésirables donneurs	4 444 effets indésirables donneurs graves déclarés en 2013, soit 15,6 pour 10 000 prélèvements Parmi eux, 22 % étaient de grade « sévère »
Effets indésirables receveurs	8 080 effets indésirables receveurs déclarés en 2013, soit 2,5 pour 1 000 produits sanguins labiles transfusés : – 52,7 % sont bien rattachés à la transfusion, 34,4 % peut-être, et 12,9 % ne le sont pas – environ 3 % de ces effets indésirables receveurs sont graves, dominés par l'allergie et la surcharge volémique – 26 décès ont été déclarés dont 5 sont imputables à la transfusion (3 surcharges, 2 infections bactériennes)
Incidents de la chaîne transfusionnelle	1 134 incidents de la chaîne transfusionnelle graves déclarés en 2013 : – 16,1 % avec transfusion de produits sanguins labiles (dont 25 % avec un effet indésirable receveur associé) – 54,1 % sont survenus à l'ETS, dont 70 % pour les seuls dépassements de volume de prélèvement – hormis ces dépassements de volume, les défaillances en lien avec l'identité des patients à différents niveaux de la chaîne transfusionnelle sont majoritaires
Informations post-don	1 540 informations post-don déclarées en 2013, soit 5,4 pour 10 000 prélèvements

4.4 Biothèques de transfusion

Le potentiel qu'offrent des biothèques bien structurées n'est plus à démontrer. Dans de nombreux domaines de la science et de la médecine, de telles banques d'échantillons biologiques ont rendu et rendront encore de grands services. Un des exemples les plus marquants a été la conjonction de l'avènement de la biologie moléculaire et des grands enjeux de santé publique qu'ont représenté, au cours des deux décennies écoulées, l'émergence du virus de l'immunodéficience humaine (VIH) et l'identification du virus de l'hépatite C (VHC) : d'innombrables travaux, dont les résultats ont été décisifs sur les plans épidémiologique, diagnostique et sécuritaire, ont pu être conduits, de manière rapide et déterminante, grâce à l'existence de sérothèques, qui offraient aux chercheurs la disponibilité immédiate d'un matériel biologique pour la constitution duquel de longs mois, voire des années, auraient été nécessaires sans elles.

La transfusion sanguine a largement bénéficié de telles stratégies de recherche, qui ont permis de renforcer, chaque fois davantage, sa dimension sécuritaire. Les établissements de transfusion se sont de surcroît largement impliqués dans la constitution de ces biothèques : ainsi, en France, ont été mises en place diverses échantillothèques transfusionnelles, qui continuent à être entretenues. Nous en citons trois, mises en exergue ici pour leur ampleur, leur ancienneté ou leur dimension internationale, mais il en existe bien d'autres, souvent constituées en partenariat avec des centres de recherche épidémiologique, biologique ou clinique. Sans omettre la place de la CNIL.

Biothèque d'Annemasse

Elle est née en 1992, sous l'impulsion de Charles Mérieux, qui souhaitait doter la France d'une structure d'archivage et de conservation d'échantillons biologiques identique à celle des *Centers for Disease Control* (CDC) d'Atlanta — une structure de cette ampleur demeure cependant encore à l'état de concept en France. Cette biothèque a été à l'origine d'une organisation technique et informatique, dont le modèle a été largement repris par la suite, notamment par l'Établissement français du sang (EFS). Elle est aujourd'hui prestataire, en tant que « Centre de ressources biologiques » (CRB), pour de nombreux partenaires publics ou privés, tels que l'Institut national de veille sanitaire (InVS), le Centre international de recherche sur le cancer (CIRC), l'Organisation mondiale de la Santé (OMS), l'Agence nationale de recherche sur le sida (ANRS), l'Inserm, des centres hospitalo-universitaires et divers groupes pharmaceutiques. Pour l'EFS, elle conserve des échantillons de dons de sang, dans des conditions techniques très sûres, activité entreprise dès 1992 : chaque don s'est ainsi trouvé « tracé » par deux paillettes de plasma, thermosoudées et codabarrées, de 500 µl chacune.

Biothèque des dons de sang de l'EFS

Elle a été la première biothèque médico-légale en France. Imposée par la directive technique n° 3 de l'Agence française du sang du 21 décembre 1998, elle prévoit l'information préalable du donneur, le prélèvement, à chaque don, d'un tube dédié contenant au maximum 5 ml, la centrifugation dans un délai inférieur à 12 heures, le conditionnement du sérum en deux paillettes de 500 µl, avec identification par code-barres, enfin la congélation rapide en vapeur d'azote et la conservation en azote liquide pour une durée de 5 ans. La directive a depuis été modifiée :

- en janvier 2001, afin d'étendre à 92 heures le délai entre le prélèvement et la centrifugation ;
- en juillet 2001, afin de mettre en place des plasmathèques, avec tube de prélèvement pour le conditionnement de plasma au lieu de sérum, puis rebouchage du tube primaire et conservation de celui-ci au minimum 42 jours à −25 °C (un accident de matériovigilance ayant nécessité la sortie d'un grand nombre de paillettes pour des contrôles biologiques venait de montrer les limites pratiques de ce type de conservation).

Cette biothèque systématique des dons de sang, imposée à l'époque par une forte pression médiatique et politique, s'est trouvée, en fin de compte, assez peu utilisée, mais chaque utilisation en a été précieuse, notamment en matière d'hémovigilance, de matériovigilance ou de réactovigilance (environ 400 paillettes sont sorties annuellement, principalement pour l'hémovigilance).

La décision de limiter la conservation de la biothèque nationale des dons de sang à 5 ans s'est accompagnée par la suite de la conservation d'une biothèque « mémoire », dans laquelle seraient gardés 2 % des échantillons, choisis de manière aléatoire, de façon centralisée et pour une très longue durée (au minimum 30 ans). Cette sauvegarde d'une partie des échantillons prélevés sur l'ensemble du territoire national ouvre désormais la possibilité d'études épidémiologiques rétrospectives, notamment sur les agents émergents ou les agents non encore identifiés, même si le volume stocké (deux paillettes de 500 µl de plasma ou de sérum) constitue une limitation relative aux travaux futurs.

Projet international BOTIA (*Blood and Organ Transmissible Infectious Agents*)

Le but de cette biothèque multicentrique internationale, dont l'Institut national de transfusion sanguine (INTS) assure la coordination au niveau européen, est de contribuer à la sécurité de la transfusion vis-à-vis des agents infectieux transmissibles par ces thérapeutiques, sur la base d'un réseau européen de spécialistes de l'étude des agents émergents et sur la constitution d'une biothèque permanente de populations de donneurs et

de receveurs de produits sanguins labiles. Au moins quatre raisons ont justifié la constitution d'une telle biothèque :

- il est désormais acquis que l'éventualité d'émergence ou de réémergence d'agents infectieux, ainsi que l'apparition de variants de virus connus constituent une menace permanente, qu'il convient de prendre en compte pour la sécurité des transfusions ;
- plusieurs années peuvent être nécessaires pour objectiver les conséquences transfusionnelles de la contamination par un agent émergent et pour prendre les mesures préventives appropriées : si l'intervalle entre l'identification du virus et la systématisation de sa détection, directe ou indirecte, dans les dons de sang a été de 3 ans pour le virus de l'hépatite B (1967-1970), de 2 ans pour le VIH (1983-1985) et pour le VHC (1988-1990), il a été de 66 ans (1937-2003) pour le virus du Nil occidental ou *West Nile Virus*, dont l'émergence a frappé de plein fouet, à partir de 1999, le territoire nord-américain, avec la nécessité d'une mise en route précipitée d'un dépistage génomique viral (DGV) sur les dons de sang en 2003, c'est-à-dire dans l'année qui a suivi le premier cas transfusionnel documenté ;
- il n'existe pas encore de procédé, applicable et validé en termes d'efficacité, de faisabilité et d'innocuité, pour inactiver les agents infectieux, connus ou inconnus, de transmissibilité sanguine sur l'ensemble des produits sanguins labiles ;
- au moins 30 à 40 % des receveurs de produits sanguins (et un pourcentage encore plus élevé de receveurs d'organes) sont des patients immunodéprimés et peuvent ainsi se trouver à plus haut risque de pathogénicité de l'infection par un agent émergent. Ce paramètre a probablement été insuffisamment pris en compte jusqu'à présent dans l'appréciation du risque propre à chaque agent transmissible.

Les objectifs principaux du projet BOTIA sont donc les suivants :

- constituer une biothèque européenne d'échantillons sanguins (sérum et cellules) de donneurs et de receveurs, recueillis avant et après transfusion, avec une traçabilité et un appariement entre les échantillons du donneur et ceux du receveur, et une représentativité de la population des donneurs et des receveurs des pays européens participants ;
- recourir à cette biothèque pour déterminer la transmissibilité et l'épidémiologie d'agents émergents à travers des études fondées sur ce matériel biologique de disponibilité immédiate. L'existence de ces échantillons appariés de donneurs et de receveurs est en effet précieuse pour documenter la transmissibilité d'un agent infectieux, et la dimension de la biothèque doit permettre de donner un reflet de l'épidémiologie de cet agent chez les donneurs et les receveurs des pays participant à sa constitution ;
- identifier des agents émergents de transmissibilité potentielle par la transfusion et documenter leur épidémiologie dans les populations impliquées et leur pathogénicité en fonction de l'état immunitaire du receveur ;

- contribuer à l'amélioration constante des critères de sélection des donneurs de sang, en fournissant des données épidémiologiques constamment actualisées, et identifier les limites et les failles éventuelles des mesures préventives en vigueur ;
- mettre à la disposition des autorités de santé des pays participants les données obtenues et les éléments influant sur la faisabilité et l'opportunité des recommandations sécuritaires qui s'ensuivent.

Les pays de la Communauté européenne associés dans la constitution de cette biothèque sont l'Angleterre, l'Espagne, la France, la Belgique, l'Italie, l'Allemagne et la Pologne. Le projet bénéficie du soutien financier de la Commission européenne. La mise en place de cette biothèque destinée à l'étude des agents émergents transmissibles par voie transfusionnelle a été en elle-même une démarche innovante et originale, car il n'existait, sur le plan européen, aucune banque d'échantillons appariés de donneurs de sang et de receveurs de produits sanguins labiles constituée en vue de l'étude d'agents infectieux détectables dans le plasma et/ou les cellules circulantes. Une telle biothèque permettra désormais la réalisation, conduite à l'échelon européen, d'études épidémiologiques sur les agents émergents transmissibles par le sang, à l'encontre de la démarche rétrospective qui a souvent été la seule approche possible au cours des précédentes décennies.

Intérêt des biothèques transfusionnelles

Une des premières raisons d'être des biothèques transfusionnelles a été de fournir un support aux enquêtes rétrospectives et d'hémovigilance, tant sur le plan médico-légal que pour une utilisation épidémiologique et sécuritaire. L'aspect médico-légal a montré ses limites et son intérêt relatif avec la biothèque nationale des dons de sang, au point qu'il est permis de se demander si une telle échantillothèque, systématique, coûteuse, de durée limitée dans le temps et difficilement utilisable en dehors de sa vocation initiale, garde encore son bien-fondé, du moins dans sa globalité. Il n'en va pas de même pour l'utilisation scientifique de telles biothèques, notamment en épidémiologie, encore que cette approche se trouve souvent limitée, lorsqu'il s'agit uniquement de prélèvements de donneurs ou uniquement de prélèvements de receveurs, sans appariement des échantillons recueillis au sein de ces deux populations.

On juge généralement la rentabilité scientifique d'une biothèque au nombre et à la qualité des publications qu'elle génère, mais il n'est plus à établir que les biothèques représentent un matériel précieux, de disponibilité rapide, pour des travaux de recherche bioclinique ou fondamentale : dans le cas présent, il s'agit d'études de prévalence d'un agent infectieux émergent ou réémergent, d'évaluations de tests diagnostiques, d'essais thérapeutiques, de suivi de cohortes, etc.

Par ailleurs, la constitution et l'approvisionnement constant d'un matériel reflétant l'état biologique d'une population à un instant donné, représentant une véritable « mémoire » de cette population, sont une archive précieuse pour des études rétrospectives portant sur une longue période. Il apparaît toutefois que les plus anciennes biothèques transfusionnelles ont souvent moins de trois décennies d'âge, et rares sont celles qui ont été entretenues sans interruption sur plus de dix ou quinze ans, de sorte qu'il serait sans doute impossible aujourd'hui de déterminer avec exactitude la prévalence de tel agent infectieux d'identification récente dans la population des donneurs et dans celle des receveurs des années 1960, 1970, voire 1980. On conçoit quelles avancées importantes et rapides de telles biothèques auraient rendu en leur temps, en permettant des études rétrospectives immédiates, reposant sur de grandes séries d'échantillons, et portant sur l'épidémiologie et les modes de diffusion d'agents infectieux tels que le VIH ou le VHC au moment de leur découverte.

Conditions de mise en place et de fonctionnement des biothèques transfusionnelles

La création et le développement d'une biothèque transfusionnelle ont des prérequis qu'il est important de respecter pour que son existence ne s'associe pas, avec le temps, à une notion d'investissement inutile en termes de moyens humains et financiers. En premier lieu, il est essentiel de bien en définir les objectifs et la finalité, ainsi que le type de matériel à conserver (sérum, plasma, sang total, *buffy coat*, ADN, etc.) et la périodicité d'échantillonnage. La prévision des moyens et du coût, notamment celui de la conservation à long terme, et donc celle de l'ampleur potentielle au cours du temps, est à considérer de prime abord.

Le respect des conditions juridiques et éthiques (consentement éclairé, secret médical, confidentialité et anonymat du donneur) est devenu aujourd'hui corollaire d'une lourdeur et d'une complexité certaines, mais il convient de les gérer, non comme une contrainte limitative ou bloquante, mais comme un encadrement nécessaire et une sécurité pour tous les acteurs en jeu. Cette dimension a eu toutefois pour effet de mettre un terme, du moins officiel, à l'éparpillement géographique d'une infinité d'échantillothèques de contenus analogues, redondantes, de qualité de conservation variable, et donc souvent peu utiles, qui stagnaient dans moult congélateurs sans que la rentabilité scientifique fût toujours au rendez-vous. On peut résumer cela par l'évolution de la notion de « sérothèque » vers celle de « biobanque ».

Pour garder, pendant sa constitution et même au-delà, toute sa fiabilité, une biothèque doit être éprouvée par des contrôles de qualité visant à

valider et à vérifier au fil du temps l'ensemble de la chaîne, de la collecte des échantillons à leur mode de stockage, des conditions de leur conservation à celles de leur utilisation. Car des accidents peuvent survenir, d'autant plus à craindre qu'ils peuvent passer inaperçus, compromettant la valeur des échantillons conservés et l'interprétation des travaux réalisés. On conçoit ainsi qu'une codification et une standardisation des protocoles d'identification, de congélation, de conservation sont indispensables et doivent être en place avant même que le premier échantillon ait été engrangé.

Développements à considérer pour des biothèques transfusionnelles

Le développement et les objectifs des futures biothèques transfusionnelles auront à prendre en compte les évolutions de la discipline transfusionnelle elle-même. Les délais et l'ampleur de ces évolutions sont, pour l'heure, difficiles à prédire, mais certains axes peuvent être dégagés.

Une gestion coordonnée des biothèques justifie d'être conduite à l'échelon national, voire international, afin de permettre leur accès à tous les acteurs de la recherche médicale et de la santé publique. De plus en plus, il conviendra d'unir le potentiel qu'offrent les outils de biologie moléculaire et celui que représente une banque d'échantillons centralisée et validée en toutes ses étapes. Ainsi, dans le domaine du risque infectieux, des biothèques d'échantillons appariés de donneurs et de receveurs, et des biothèques fondées sur des cohortes de receveurs apporteraient des données capitales sur la transmissibilité sanguine, sur l'histoire naturelle et sur l'ancienneté d'émergence, dans les populations considérées, de tout agent nouvellement identifié. Le variant de la maladie de Creutzfeldt-Jakob, si des cas transfusionnels font jour au cours des prochaines années en France, en sera peut-être une illustration.

À côté de cela, l'utilité des biobanques transfusionnelles comme instrument de santé publique pourra être rentabilisée en les considérant comme des biothèques patrimoniales, constituant autant de cartes sanitaires d'une population à un moment donné de son histoire, ceci sous réserve que soient conservés à la fois un matériel biologique en quantité suffisante et les données associées, le tout sur un très long terme. L'EFS, établissement public qui partage, avec le Centre de transfusion sanguine des armées, le monopole national de la collecte des dons de sang, est une des structures les plus à même d'établir et d'entretenir une telle biothèque patrimoniale, car il dispose à la fois des outils techniques, du savoir-faire et surtout d'un réseau réparti sur la totalité du territoire. De tels atouts méritent d'être valorisés et le résultat d'être mis à la disposition de l'ensemble de la communauté scientifique.

5 Utilisation des produits sanguins labiles

5.1 Utilisation appropriée des produits sanguins labiles

Les produits sanguins labiles comprennent les concentrés de globules rouges, les concentrés de plaquettes, les concentrés de granulocytes d'aphérèse et les plasmas thérapeutiques. Leur utilisation appropriée peut être définie comme étant, d'une part, la réalisation de la transfusion de l'un ou de plusieurs de ces produits sanguins labiles chez un patient répondant aux critères d'indication au moment où il en a effectivement besoin, d'autre part l'absence de réalisation d'une transfusion chez les patients ne répondant pas à ces critères. Le problème des plasmas a été évoqué au chapitre 1.

L'utilisation appropriée des produits sanguins labiles nécessite ainsi de maîtriser la connaissance :

- de leurs caractéristiques ;
- de la réglementation applicable, dont celle des analyses de biologie médicale pré- et post-transfusionnelles et celle de l'organisation nationale, régionale et locale (organisation) de la transfusion ;
- des recommandations en vigueur ;
- et, enfin, de ce qu'on appelle les bonnes pratiques cliniques.

Textes de référence

Caractéristiques des produits sanguins labiles

Ces produits sanguins labiles sont décrits de façon détaillée dans un document réglementaire : Décision du directeur général de l'Afssaps du 20 octobre 2010, publié au *Journal officiel* le 28 novembre 2010 ; chaque addition ou modification d'un procédé donne lieu à une décision complémentaire. Cela peut être consulté sur le site internet de l'ANSM.

Bonnes pratiques transfusionnelles et conditions de réalisation d'analyses biologiques

Le texte de référence est la décision du directeur général de l'Afssaps du 6 novembre 2006. Les conditions de réalisation des analyses d'immunohématologie sont détaillées dans l'arrêté du 26 avril 2002.

© 2015 Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

Les conditions de réalisation de ces examens sont comprises dans la loi générale applicable aux examens de biologie médicale (loi du 30 mai 2013 portant réforme de la biologie médicale) ; la réglementation en vigueur comprend à présent l'obligation de l'accréditation des laboratoires de biologie médicale selon une norme exigible.

Il convient d'y ajouter la connaissance des analyses immunologiques spécialisées utiles pour :

- la transfusion de plaquettes : typage HLA de classe I, recherche d'anticorps anti-HLA, recherche d'anticorps spécifiques anti-plaquettes ;
- la transfusion de granulocytes : typage NA et recherche d'anticorps spécifiques antigranuleux.

Recommandations de bonnes pratiques cliniques

Pour chaque famille de produits sanguins labiles, des recommandations de bonnes pratiques ont été élaborées par des groupes d'experts de transfusion sanguine et des disciplines cliniques concernées sous l'autorité des agences réglementaires. Ces recommandations ont vocation à être revues périodiquement et sont consultables sur le site de l'ANSM. Celles relatives au plasma thérapeutique ont été revues en 2012, celles sur les plaquettes sont en attente de publication (2014 ou 2015 — la dernière version date de 2003) et celles sur les globules rouges, qui datent de 2002, sont en cours de révision. Les chapitres précédents ont été consacrés à résumer ces diverses recommandations de bonnes pratiques. L'Afssaps a également publié un texte de recommandations de bonnes pratiques relatif à la prise en charge de l'anémie au cours de l'insuffisance rénale chronique.

De surcroît, la Haute Autorité de santé (HAS) a publié de nombreux textes relatifs à la bonne indication des transfusions sanguines dans le cadre :

- de la drépanocytose chez l'adulte ;
- de la drépanocytose chez l'enfant et l'adolescent ;
- des anémies hémolytiques auto-immunes ;
- du purpura thrombopénique auto-immun ;
- des syndromes thalassémiques ;
- des syndromes myélodysplasiques.

Organisation des transfusions et contraintes diverses

Les conditions de réalisation des transfusions sont différentes selon :

- l'organisation de l'établissement dans lequel la transfusion est réalisée : l'existence de procédures transfusionnelles revues par le CSTH (comité de sécurité transfusionnelle et d'hémovigilance) ou la SCSTH (sous-commission à la sécurité transfusionnelle et à l'hémovigilance) est ainsi un élément important pour utiliser de façon appropriée des produits sanguins labiles ;
- le type de patients accueillis dans l'établissement de soins ;

• les contraintes propres à l'établissement de soins ou partagées entre l'établissement de soins et l'établissement de transfusion sanguine fournissant les produits sanguins labiles.

Outils à développer pour atteindre une utilisation appropriée des produits sanguins labiles

En pratique, l'utilisation appropriée des produits sanguins labiles requiert de développer trois grands axes : la formation, l'établissement de procédures, l'évaluation des activités transfusionnelles revues par le CSTH (comité de sécurité transfusionnelle et d'hémovigilance) ou la SCSTH (sous-commission à la sécurité transfusionnelle et à l'hémovigilance), rattachée à la CME, à savoir la commission médicale d'établissement (public) ou la conférence médicale d'établissement (privé). Il doit organiser, au sein de l'établissement de soins, les outils permettant d'apprécier l'utilisation appropriée des produits sanguins labiles.

Formation

La formation (chapitre 13) dans le domaine transfusionnel doit concerner tous les acteurs impliqués :

• le personnel médical : l'enseignement de la transfusion sanguine dans le cursus de base de l'enseignement médical n'est pas suffisant pour en permettre la pratique ; des formations complémentaires sont dispensées dans les spécialités où la transfusion est plus fréquente. Des formations à la transfusion clinique à l'attention des médecins doivent être organisées par chaque établissement de soins dans lequel des transfusions sont réalisées. L'objectif de telles formations est de mettre à jour des connaissances sur la transfusion, les produits sanguins, les indications et sur la réglementation ; elle s'attache aussi à insister sur les conditions de sécurité, de traçabilité, de qualité et de surveillance nécessaires et suffisantes. Ce personnel comprend des médecins prescripteurs ou hémovigilants, mais aussi des pharmaciens responsables de dépôts de produits sanguins et/ou hémovigilants ;

• le personnel infirmier : le rôle des infirmiers est crucial pour la sécurité transfusionnelle et la réduction, au cours des vingt dernières années, des accidents par incompatibilité dans le système ABO est sûrement la résultante d'une forte mobilisation de formation dans ce domaine ;

• le personnel des laboratoires : les biologistes et les techniciens de laboratoire impliqués dans la réalisation des analyses utiles à la sécurité transfusionnelle doivent également intégrer la mise à jour de leurs connaissances en transfusion sanguine dans leur développement professionnel continu ;

• les autres personnels hospitaliers : il ne faut pas sous-estimer le rôle des personnels impliqués dans la logistique (les coursiers, notamment), qui peuvent jouer un rôle considérable dans l'efficacité de l'organisation des transfusions, notamment en situation d'urgence vitale.

Élaboration de procédures et de modes opératoires

Chaque établissement de santé réalisant des transfusions sanguines doit se doter d'un certain nombre de procédures. Ces dernières doivent être comprises comme la mise en œuvre, sous forme adaptée à la situation locale, des obligations réglementaires et des recommandations existantes en matière de transfusion sanguine. À titre d'exemple, le tableau 5.1 fournit une liste de procédures que chaque établissement de santé réalisant des

Tableau 5.1. Exemples de procédures à mettre en place dans un établissement de santé réalisant des transfusions.

1	Information du patient et recueil de son consentement à être transfusé
2	Prélèvement d'échantillons de sang du patient pour analyses prétransfusionnelles
3	Transport des échantillons de sang au laboratoire pour analyses prétransfusionnelles
4	Réalisation des tests de laboratoire prétransfusionnels
5	Délivrance de concentrés de globules rouges en urgence
6	Si « oui » à l'item 5 : délivrance en l'absence de recherche d'anticorps irréguliers et/ou de test de compatibilité
7	Si « oui » à l'item 5 : délivrance en l'absence de connaissance des groupes sanguins ABO et RH1 (D)
8	Transport des produits sanguins labiles de la structure de délivrance (dépôt ou établissement de transfusion sanguine) vers le service de soins
9	Réception des produits sanguins labiles dans le service de soins
10	Identification du malade « au lit du patient » avant la pose d'une transfusion sanguine
11	Contrôles de documents « au lit du patient » avant la pose d'une transfusion sanguine
12	Réalisation de tests prétransfusionnels au lit du patient
13	Décongélation des plasmas frais congelés
14	Réchauffement des concentrés de globules rouges
15	Contrôle de la durée de la transfusion des produits sanguins labiles
16	Surveillance clinique de la transfusion de produits sanguins labiles
17	Conduite à tenir devant un effet indésirable en cours ou au décours d'une transfusion de produits sanguins labiles
18	Traçabilité des produits sanguins labiles
19	Déclaration d'incident de la chaîne transfusionnelle

transfusions doit avoir à disposition. Ce tableau reste toutefois « généraliste » ; des procédures additionnelles spécifiquement adaptées aux patients traités dans l'établissement de soins doivent être élaborées, relatives par exemple à la néonatalogie, l'obstétrique, l'hématologie, la cancérologie, etc.

Évaluation des pratiques transfusionnelles

De manière générale, l'évaluation des pratiques transfusionnelles requiert la mise en œuvre d'audits, qui doivent être régulièrement organisés.

Bon déroulement des transfusions

C'est par l'étude du contenu des dossiers des patients qu'on peut s'assurer *a posteriori* de la bonne réalisation d'une transfusion et du respect des règles de bonnes pratiques. Un exemple simple est fourni dans le tableau 5.2 qui est à compléter pour un nombre restreint de produits sanguins labiles délivrés, de préférence tirés au sort.

Tableau 5.2. Éléments pour s'assurer de la bonne réalisation d'une transfusion.

1	La trace de l'information prétransfusionnelle et/ou du consentement du patient est présente dans son dossier clinique
2	Tous les documents du dossier clinique du patient et du dossier de la structure de délivrance (dépôt ou établissement de transfusion sanguine) montrent une concordance complète d'identité (nom de naissance, nom d'usage, prénom, date de naissance, sexe)
3	Les contrôles prétransfusionnels (vérification de documents et/ou tests « au lit du patient ») sont tracés dans le dossier clinique du patient
4	Le numéro d'identification du produit sanguin labile dans le dossier clinique du patient est concordant avec celui noté au niveau de la structure de délivrance (dépôt ou site transfusionnel)
5	En cas de produit sanguin labile prescrit mais non transfusé, le numéro d'identification est inscrit comme tel dans le dossier clinique du patient et dans la documentation de la structure de délivrance
6	Le temps écoulé entre l'heure de la délivrance du produit sanguin labile et l'heure de début de transfusion est documenté dans le dossier clinique du patient
7	Si « oui » à l'item 6, ce temps est conforme à la réglementation
8	La durée totale de la transfusion du produit sanguin labile est documentée dans le dossier clinique du patient (heure de début et heure de fin de transfusion)
9	En cas de produit sanguin labile délivré en urgence, le temps entre la réception de la demande et la délivrance proprement dite respecte la procédure en vigueur
10	La tolérance clinique au produit sanguin labile (absence ou présence d'effet indésirable) est documentée dans le dossier clinique du patient
11	Un effet indésirable a été observé au cours ou au décours de la transfusion de ce produit sanguin labile

▷

12	Si « oui » à l'item 11, la procédure de prise en charge d'un effet indésirable a été suivie
13	Si « oui » à l'item 11, la notification au réseau d'hémovigilance a été faite
14	Un incident de la chaîne transfusionnelle a été observé au cours ou au décours de la transfusion de ce produit sanguin labile
15	Si « oui » à l'item 14, la procédure de signalement d'un incident de la chaîne transfusionnelle a été suivie
16	Si « oui » à l'item 14, la notification au réseau d'hémovigilance a été faite

Respect des critères d'indication des produits sanguins labiles

Ce type d'audit est plus complexe à mettre en œuvre. Citons cet exemple préparé par le Collège français d'anesthésie-réanimation et mis à la disposition des utilisateurs par la HAS : *Référentiel de pratiques transfusionnelles en anesthésie-réanimation* (juin 2005)[1].

Un autre exemple est fourni dans le tableau 5.3 spécifiquement applicable à une activité chirurgicale répandue, la prothèse totale de hanche.

Tableau 5.3. Exemple d'audit des critères d'indication des produits sanguins labiles.

1	Âge :	
2	Sexe :	
3	Poids :	
4	Urgence/traumatisme	
5	Première intervention programmée	
6	Réintervention programmée	
7	Méthode « non invasive »	
8	Score ASA	
9	Présence d'antécédents cardiovasculaires :	(*si non, aller à la question 12*)
10	– *si oui, absence de symptômes au moment de l'intervention*	
11	– *si oui, insuffisance coronaire avérée ou insuffisance cardiaque avérée au moment de l'intervention*	
12	Traitement médicamenteux :	(*si non, aller à la question 15*)
13	– *si oui, médicaments avec effet procoagulant (par exemple, desmopressine) et/ou anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS)*	
14	– *traitement anticoagulant ou antithrombotique (par exemple, AVK, aspirine, clopidogrel, etc.)*	

1. http://www.has-sante.fr/portail/jcms/c_832465/transfusion-en-anesthesie-reanimationreferentiel2005

15	Anémie prise en charge avant intervention :	(*si non, aller à la question 19*)
16	– *si oui, traitement par érythropoïétine*	
17	– *si oui, traitement martial per os*	
18	– *si oui, traitement par fer intraveineux*	
19	Autotransfusion programmée préopératoire :	(*si non, aller à la question 21*)
20	– *si oui, nombre d'unités de concentrés de globules rouges prélevées*	
21	Le dossier pré-anesthésique contient une évaluation des pertes sanguines attendues, et le volume de perte acceptable tient compte des facteurs éventuels de comorbidité	
22	Concentration d'hémoglobine pré-intervention : … g/l	
23	Durée de l'intervention : … minutes	
24	L'estimation du volume des pertes sanguines réalisées est documentée dans le dossier du patient	
25	Estimation des pertes sanguines : … ml	
26	Une technique de récupération de sang préopératoire a été mise en œuvre	
27	Concentration d'hémoglobine la plus basse mesurée dans la période : … g/l	
28	Complication opératoire inattendue	
29	Le patient a été transfusé :	(*si non, aller à la question 42*)
30	– *si oui, nombre de concentrés de globules rouges autologues transfusés*	
31	– *si oui, nombre de concentrés de globules rouges homologues transfusés*	
32	– *si oui, nombre de plasmas frais congelés transfusés (200 à 250 ml par produit)*	
33	– *si oui, nombre de concentrés de plaquettes transfusés*	
34	En cas de transfusion de concentrés de globules rouges, la justification de la transfusion est documentée dans le dossier du patient	
35	En cas de transfusion de concentrés de globules rouges, la concentration d'hémoglobine prétransfusionnelle est dans le dossier	
36	En cas de transfusion de plasmas frais congelés, la justification de la transfusion est documentée dans le dossier du patient	
37	En cas de transfusion de concentrés de plaquettes, la justification de la transfusion est documentée dans le dossier du patient	
38	Il y a eu une transfusion en situation d'urgence vitale :	
39	– *si oui, la commande en urgence vitale est tracée dans le dossier du patient*	
40	– *si oui, la commande en urgence vitale est tracée dans la structure de délivrance (dépôt, site EFS)*	
41	– *si oui, le délai de délivrance a bien été respecté*	

42	Existence d'un traitement de prévention de thrombose	
43	L'estimation du volume des pertes sanguines réalisées postopératoires est documentée dans le dossier	
44	Concentration d'hémoglobine à la sortie du service : … g/l	
45	Durée de séjour : … jours	

Recherche des patients transfusés avec retard ou non transfusés

La « non-transfusion » ou le retard à la transfusion peuvent être à l'origine d'une morbidité importante, voire du décès de certains patients. La détection de cette absence d'utilisation de produits sanguins labiles chez des patients qui les requièrent est difficile, mais elle mérite d'être entreprise pour s'assurer que la politique transfusionnelle dans un établissement donné est efficace. En pratique, la voie d'abord la plus efficace est l'audit rétrospectif de dossiers de patients sélectionnés sur la base d'indicateurs cliniques (complications) ou biologiques (taux d'Hb ou numération plaquettaire) en relation avec une absence de transfusion.

5.2 Transfusion de concentrés érythrocytaires

Les concentrés de globules rouges (CGR) peuvent être préparés à partir d'un don de sang total ou à partir d'un prélèvement d'aphérèse. Ils font systématiquement l'objet d'une déleucocytation et d'une remise en suspension dans 100 ml d'une solution supplémentaire de conservation en phase liquide. Cette solution est composée de chlorure de sodium, d'adénine, de glucose et de mannitol (solution SAG-M). Le CGR a un contenu en hémoglobine minimal de 40 g (en moyenne, il est de 55 g). Son volume minimal est de 225 ml (en moyenne, il est de 300 ml). Il doit être conservé entre 2 et 6 °C, et peut être délivré jusqu'à 42 jours après le don de sang correspondant. Sa production doit garantir un taux d'hémolyse en fin de conservation inférieur à 0,8 % de la masse globulaire.

Des préparations dites secondaires ou l'application de qualifications au-delà de la qualification réglementaire minimale exigée permettent d'adapter certains CGR aux besoins de certains patients (âge, maladie, comorbidité).

Différents types de CGR

CGR phénotypé

Au-delà des groupes ABO et RH:1 ou D standard, cinq antigènes de groupe sanguin sont déterminés : RH:2 (C), 3 (E), 4 (c), 5 (e) et KEL:1 (Kell). Un

certain pourcentage de CGR est phénotypé pour d'autres antigènes, le plus souvent appartenant aux systèmes Duffy (FY), Kidd (JK) et MNSs : on parle alors de phénotype « étendu » ou « élargi ». Il y a ainsi des indications formelles et des indications recommandées de transfusion phénotypée (élargie).

Les indications formelles comprennent les contextes suivants :

- les patients porteurs d'alloanticorps antiérythrocytaires ou ayant des antécédents de tels anticorps, à l'exclusion de ceux jugés sans intérêt transfusionnel, afin de prévenir les accidents hémolytiques : les CGR doivent être sélectionnés comme non-porteurs de l'antigène ou des antigènes correspondants aux anticorps détectés chez le patient ;
- les femmes, de la naissance jusqu'à la fin de la période procréatrice, car l'apparition d'un anticorps antiérythrocytaire représente un risque supplémentaire de conflit fœtomaternel en cas de future grossesse ;
- les nouveau-nés, en présence d'un anticorps antiérythrocytaire (d'origine maternelle), quel que soit le sexe.

À côté de ces indications indiscutables, il existe quelques indications recommandées :

- les receveurs de transfusions itératives : en pratique, il s'agit de patients transfusés pour une myélodysplasie, une hémoglobinopathie ou toute autre cause requérant des transfusions régulières ;
- tout patient, quel que soit le sexe, ayant une espérance de vie raisonnable.

CGR compatibilisé

L'épreuve directe de compatibilité de CGR phénotypés RH-KELL est une analyse non systématique, qui s'inscrit en complément de la recherche des anticorps irréguliers antiérythrocytaires (RAI). Elle consiste à tester le sérum du receveur vis-à-vis des hématies contenues dans la tubulure du CGR à transfuser, puis d'attribuer à ce CGR la qualification « compatibilisé » si l'épreuve s'est révélée négative. Le délai maximal de validité de cette épreuve est de 3 jours à partir de la date du prélèvement du receveur Les deux indications des CGR compatibilisés sont les suivantes :

- le patient présentant, ou ayant présenté, ou suspecté de présenter un ou plusieurs alloanticorps antiérythrocytaires vis-à-vis de CGR phénotypés RH-KELL, en dehors de l'urgence vitale ;
- le nouveau-né porteur d'anticorps antiérythrocytaires : les CGR sont compatibilisés vis-à-vis d'un échantillon de sérum de la mère, d'où proviennent les anticorps. En cas d'indisponibilité de cet échantillon sérique, celui de l'enfant est utilisé.

La drépanocytose est également une indication.

CGR « CMV-négatifs »

Ces CGR proviennent du don de sang effectué par des donneurs négatifs pour la recherche d'anticorps anti-cytomégalovirus. Les restrictions à

l'utilisation de sang CMV-négatif viennent de la rareté relative des donneurs CMV-négatifs dans la population adulte (moins de 50 %), ainsi que de l'intérêt du sang déleucocyté, qui est également capable de prévenir les contaminations par ce virus, entièrement intraleucocytaire dans le sang. Les indications de ce produit sont :

- les receveurs CMV-négatifs de cellules souches hématopoïétiques issues d'un donneur lui-même CMV-négatif ;
- les femmes enceintes CMV-négatives ou dont le statut sérologique vis-à-vis du CMV est inconnu ;
- les prématurés de moins de 32 semaines dont la sérologie maternelle vis-à-vis du CMV est négative ou inconnue ;
- les receveurs de greffe pulmonaire, quel que soit leur statut vis-à-vis du CMV.

Ces indications sont maintenues en France — en particulier les deux dernières, plus formelles que les deux premières — mais certains systèmes transfusionnels les ont abandonnées sur la base d'une leucoréduction très efficace (le CMV est strictement intracellulaire/intraleucocytaire).

L'exigence de CGR qualifiés CMV-négatifs (pour les CGR comme pour les concentrés de plaquettes) en dehors des indications les plus strictes, compromet l'équilibre du stock des PSL et pénalise la disponibilité des produits pour d'autres malades.

CGR déplasmatisé

Il s'agit de CGR débarrassés de leur environnement plasmatique (avec un taux résiduel de protéines plasmatiques inférieur à 0,5 g) à la suite de plusieurs lavages successifs. Ils contiennent au moins 35 g d'hémoglobine et doivent être utilisés dans les 6 heures qui suivent leur préparation. Les indications des CGR déplasmatisés sont :

- les sujets ayant une mauvaise tolérance aux protéines plasmatiques, avec notamment des antécédents de réactions transfusionnelles anaphylactiques majeures (urticaire étendue, bronchospasme, œdème de Quincke, choc anaphylactique, présence d'anticorps anti-IgA) ;
- les sujets ayant des antécédents de purpura post-transfusionnel, car la déplasmatisation assure simultanément une déplaquettisation.

CGR irradié

Ces CGR sont exposés à une irradiation de 25 à 45 Gy, afin d'annihiler tout potentiel réplicatif cellulaire. De tels produits ont pour vocation de prévenir la réaction du greffon contre l'hôte, ou *Graft versus Host* (GVH), post-transfusionnelle. Leurs indications se répartissent en indications formelles et en indications discutées, car ne faisant pas l'objet de consensus :

- les *indications formelles* sont les suivantes :
  – la transfusion sanguine *in utero* ;
  – l'exsanguino-transfusion chez le nouveau-né prématuré ;
  – les malades subissant ou devant subir des prélèvements de cellules souches en vue d'une greffe autologue ;
  – les sujets porteurs d'un déficit immunitaire congénital cellulaire ;
  – les patients traités par greffe de cellules souches hématopoïétiques autologues ou allogéniques, dès le début du conditionnement, pendant au moins 1 an après l'autogreffe, à vie après une allogreffe ;
  – les patients traités par fludarabine ;
  – la transfusion de CGR provenant d'un don dirigé intrafamilial, quel que soit le degré de parenté entre donneur et receveur ;
- les *indications discutées* sont les suivantes :
  – la maladie de Hodgkin en cours de traitement ;
  – les chimiothérapies pour lymphomes non hodgkiniens, leucémies aiguës ou tumeurs solides ;
  – les receveurs de greffe d'organe.

On notera que l'irradiation n'est réalisée que sur un CGR de 28 jours au plus pour l'adulte (moins de 5 jours pour le nouveau-né) et qu'il se conservera alors un maximum de14 jours pour l'adulte (24 heures pour le nouveau-né).

L'irradiation, lorsqu'elle n'est pas nécessaire, peut altérer la qualité du produit (même si cette altération est modeste) ; il serait « anti-qualité » de proposer donc un CGR irradié à un receveur ne le requérant pas.

Certains auteurs pensent qu'on prescrit trop de PSL irradiés, ce qui accroît considérablement le nombre d'incidents.

CGR cryoconservé

Ce type de CGR est conservé à des températures négatives de – 80 °C à – 196 °C, qui permettent d'utiliser des globules rouges prélevés de nombreuses années auparavant (parfois plus de 10 ans). Les produits utilisés après décongélation sont pratiquement dépourvus de protéines plasmatiques, de plaquettes ou de leucocytes résiduels. Ils doivent être utilisés dans les 24 heures suivant cette décongélation. De tels CGR permettent de constituer des banques de sangs rares, parfois autologues, pour les receveurs ayant un groupe sanguin rare et/ou une immunisation large et complexe.

Préparation pédiatrique de CGR

Les CGR pédiatriques proviennent de la division d'un CGR en plusieurs fractions, afin de s'adapter au volume nécessaire chez le nouveau-né. Par ce moyen, un seul don conduit à la production de plusieurs unités utilisables successivement chez un même nouveau-né.

Sang total reconstitué

C'est le mélange aseptique d'un CGR déleucocyté soit avec de l'albumine à 4 % soit avec du plasma frais congelé. La reconstitution se fait habituellement avec du plasma frais congelé afin de prévenir les troubles de la coagulation que pourrait induire l'utilisation de l'albumine — il n'existe cependant pas d'étude démontrant les bénéfices et les inconvénients de chacun des deux produits. Le sang total reconstitué peut trouver une indication chez le nouveau-né dans un contexte d'exsanguino-transfusion ou de techniques d'assistance cardiorespiratoire.

Indications cliniques de la transfusion de CGR

Urgence hémorragique, anesthésie et réanimation

Les seuils suivants sont retenus :
- 7 g/dl chez les personnes sans antécédents particuliers ;
- 8-9 g/dl chez les sujets ayant des antécédents cardiovasculaires ;
- 10 g/dl chez les sujets ne tolérant pas cliniquement les concentrations d'hémoglobine inférieures ou atteintes d'insuffisance coronaire aiguë ou d'insuffisance cardiaque avérée.

Situation postopératoire

Le seuil transfusionnel recommandé y est de 8 g/dl, en l'absence de pathologie cardiovasculaire. Dans le cas de l'infarctus du myocarde à la phase aiguë, de l'angor instable et de l'insuffisance ventriculaire gauche, le seuil est de 10 g/dl. Chez le sujet coronarien en dehors de toute pathologie aiguë, il n'y a pas d'argument pour recommander un seuil supérieur à 8 g/dl.

Anémie aiguë

Dans ce contexte, les signes de gravité les plus fréquents sont une syncope, une dyspnée, une tachycardie, un angor, une hypotension orthostatique, un accident ischémique transitoire. Les signes suivants doivent faire envisager la transfusion de CGR :
- chez le sujet jeune en bonne santé : une polypnée excessive, une tachycardie supérieure à 130 par minute ou une hypotension persistante ;
- chez le sujet âgé ou coronarien ou porteur d'un rétrécissement aortique : l'apparition ou l'aggravation d'un angor, des modifications de l'ECG en faveur d'une ischémie myocardique, l'apparition d'un déficit neurologique (y compris transitoire) ;
- chez le sujet insuffisant cardiaque ou respiratoire : une altération de la vigilance, une lipothymie d'effort, une hypotension persistante ou une baisse significative de la PaO_2.

La vitesse de perfusion habituellement utilisée chez l'adulte pour corriger une anémie aiguë est de 10 à 15 ml par minute, soit un CGR en 20 minutes. Chez le nouveau-né, elle est de 3 à 15 ml/kg par heure.

Urgence vitale immédiate

Les CGR sont éventuellement délivrés sans détermination du groupe sanguin et sans recherche d'agglutinines irrégulières (RAI) chez le receveur. On prend des produits O RH:–1, KEL:–1 ou O RH1 (si possible RH:–3,–4), KEL:–1. La prescription doit mentionner l'urgence vitale immédiate et être accompagnée des échantillons pour les analyses immuno-hématologiques, qui sont réalisées dès que possible. En présence de données valides d'immuno-hématologie et en contexte d'urgence, il est recommandé de distribuer des CGR de groupe RH:–1 si le phénotype du patient est RH:–1, des CGR de groupe RH:1 (Rh D positif) si le phénotype du patient est RH:1. En cas de groupe sanguin établi sur une seule détermination, il est impératif de transfuser en groupe O, en respectant si possible le groupe RH du patient.

Urgence vitale

Le délai d'obtention des produits sanguins labiles doit être inférieur à 30 minutes et les CGR doivent être délivrés avec un groupe sanguin conforme, éventuellement sans RAI si l'examen n'est pas disponible. La prescription mentionne l'urgence vitale et est accompagnée des échantillons pour les analyses immuno-hématologiques. La RAI est réalisée dès que possible.

Urgence relative

Le temps disponible est le plus souvent de 2 à 3 heures, ce qui permet la réalisation de l'ensemble des examens immuno-hématologiques (dont la RAI si la précédente date de plus de 3 jours). Les produits sanguins labiles distribués sont isogroupes, au besoin compatibilisés. La situation hémorragique pouvant se modifier à tout moment, il est possible de requalifier si nécessaire le degré d'urgence.

Anémie chronique

Les symptômes d'anémie chronique sont une asthénie, une irritabilité, des palpitations, une dyspnée d'effort, des céphalées et des vertiges. La tolérance clinique est très variable d'un individu à l'autre et diffère selon son activité physique. Une transfusion n'est indiquée qu'en l'absence de traitement étiologique disponible (thérapeutique d'une carence en fer, en folates, en vitamine B12, arrêt d'un médicament hématotoxique, traitement d'une

maladie inflammatoire) ou lorsque la sévérité de l'anémie ne permet pas d'attendre la réponse à ce traitement étiologique :

- taux d'hémoglobine à 10 g/dl : les indications sont rares et restreintes aux patients atteints de pathologie cardiopulmonaire, manifestant des signes d'intolérance ;
- taux d'hémoglobine à 8 g/dl (8 à 10) : les indications sont restreintes aux patients devant être actifs et limités dans leur activité, ainsi qu'aux personnes ayant des antécédents cardiovasculaires ;
- taux d'hémoglobine à 6 g/dl (6 à 8) : la transfusion est généralement indiquée, sauf en cas de bonne tolérance (anémie de Biermer, anémie ferriprive, certaines anémies hémolytiques chroniques, anémie de l'insuffisance rénale chronique). Chez les personnes âgées ou insuffisantes cardiaques, la transfusion s'effectue sur la base d'un seul CGR à la fois.

La vitesse de correction pour corriger une anémie chronique est lente pendant les 15 premières minutes (< 5 ml/minute). Elle peut ensuite être augmentée (jusqu'à 10 ml/minute) en l'absence de signes cliniques d'intolérance. En cas de surcharge volémique, notamment chez l'insuffisant cardiaque, la vitesse doit rester lente durant toute la transfusion (inférieure à 5 ml/minute) ; la position demi-assise et l'emploi de diurétiques peuvent alors être indiqués.

Hématologie et oncologie

Le seuil recommandé est de 8 g/dl d'hémoglobine, lorsque la correction spontanée de l'anémie n'est pas prévisible à court terme, et de 9-10 g/dl dans les circonstances qui augmentent la consommation d'oxygène : infection sévère, bronchospasmes, complications pulmonaires, cardiaques réduisant la réserve fonctionnelle cardiaque (ischémie myocardique, fibrillation auriculaire). Dans le cas particulier des allogreffes de cellules souches hématopoïétiques, les règles transfusionnelles tiennent compte des groupes érythrocytaires du donneur et du receveur, ainsi que du délai d'administration des CGR par rapport à la date de la greffe.

Bêtathalassémie homozygote

Le seuil recommandé chez l'enfant et l'adolescent est de 10 g/dl d'hémoglobine, seuil qui permet de mener des activités normales ; il réduit les troubles du développement et l'hyperplasie érythroïde responsable de déformations morphologiques. En pratique, l'apport est de 15 ml/kg toutes les 3 semaines ou de 20 ml/kg toutes les 4 semaines. Le seuil transfusionnel peut être moins élevé chez l'adulte : 8 à 9 g/dl.

Drépanocytose homozygote

Un taux d'hémoglobine de 8 ± 1 g/dl permet une activité et une croissance normales. Il n'y a généralement pas nécessité de transfuser un patient drépanocytaire adulte, bien portant, avec un taux d'hémoglobine supérieur à 6 g/dl. Les indications d'une transfusion sanguine simple sont les suivantes :

- l'hyperhémolyse provoquée par une infection quelconque ou contemporaine d'une crise vaso-occlusive ;
- l'infection à parvovirus B19 ;
- le syndrome inflammatoire aigu : l'indication transfusionnelle se discute ici en fonction de la tolérance clinique et de la rapidité de réascension du taux de réticulocytes ;
- la séquestration splénique aiguë (splénomégalie rapidement croissante alors qu'apparaît une déglobulisation brutale) est une urgence transfusionnelle. La séquestration peut devenir chronique, entraînant des besoins transfusionnels répétés : la splénectomie doit alors être discutée.

Certains malades drépanocytaires sont soumis à des échanges transfusionnels, méthode consistant à soustraire de la circulation une partie des globules rouges préalablement et/ou simultanément à la transfusion de CGR. Cet échange transfusionnel peut être réalisé manuellement ou à l'aide d'un séparateur de cellules. L'objectif est d'abaisser la proportion de globules rouges porteurs de l'hémoglobine S à un taux compris entre 30 et 40 %.

Les indications de l'échange transfusionnel ponctuel sont : le syndrome thoracique aigu, l'accident vasculaire cérébral, le priapisme, la séquestration hépatique, le choc septique, la crise douloureuse résistante aux antalgiques, la préparation à une intervention chirurgicale.

Les indications de l'échange transfusionnel au long cours sont l'antécédent d'accident vasculaire cérébral et la détérioration viscérale sévère (insuffisance respiratoire, rénale, cardiaque).

Chez la femme drépanocytaire enceinte, une pratique fréquente est de transfuser entre le 5e et le 9e mois, afin de maintenir le taux d'hémoglobine entre 10 et 11 g/dl et une proportion de globules rouges porteurs de l'hémoglobine S inférieure à 40 %. Ceci peut être obtenu, selon les cas, par transfusion simple ou par échange transfusionnel.

Anémies hémolytiques acquises

Le seuil recommandé est de 8 g/dl d'hémoglobine en cas d'anémie chronique mal tolérée et ne pouvant être corrigée autrement que par transfusion. On peut ne pas transfuser à des seuils inférieurs, notamment si on escompte une amélioration à court terme, spontanée ou secondaire au traitement étiologique de l'anémie hémolytique acquise.

Problèmes liés aux autoanticorps antiérythrocytaires

Dans certains cas, il faut recourir à des laboratoires d'immuno-hématologie hautement spécialisés (Centre national de référence pour les groupes sanguins) et rechercher des produits érythrocytaires rares, parfois au plan national. Il est le plus souvent impossible de transfuser des globules rouges non porteurs d'antigènes reconnus par les autoanticorps présents, car ceux-ci sont généralement dirigés contre des antigènes « publics », majoritairement présents dans la population. Le risque majeur est la survenue d'accidents hémolytiques transfusionnels, très graves du fait de l'absence de détection d'alloanticorps acquis, masqués par les autoanticorps. La recherche de tels alloanticorps nécessite des techniques sérologiques rigoureuses, notamment l'absorption et l'élution directe.

Température des CGR transfusés

En présence d'agglutinines froides ou d'anticorps biphasiques, il est recommandé de transfuser des concentrés érythrocytaires portés à 37 °C par un dispositif de réchauffement de la tubulure au lit du malade.

Il est prudent de surveiller particulièrement les 10 premières minutes de la transfusion et, si l'état du patient le permet, de respecter à cette phase un débit de perfusion lent, de l'ordre de 2 ml/minute.
Une situation d'urgence vitale autorise la transfusion de CGR avant les résultats de la recherche d'alloanticorps, laquelle prend du temps en raison de la présence des autoanticorps circulants. Elle peut être nécessaire en cas de mauvaise tolérance clinique de l'anémie.

Anémies hémolytiques immuno-allergiques médicamenteuses

Le médicament doit être arrêté (ce qui peut être difficile chez certains patients). Des agents divers peuvent provoquer des anémies aiguës, parfois très sévères et nécessitant des transfusions d'urgence, voire des exsanguino-transfusions.

Transfusion de CGR en néonatalogie

Dans ce contexte, les indications de la transfusion de CGR conservés moins de 5 jours sont les suivantes : une transfusion massive (plus d'une masse sanguine) en cas de perte volémique aiguë ; une exsanguino-transfusion ; des transfusions réalisées au cours de techniques d'épuration extracorporelle du CO_2. En théorie, dans toutes les autres indications, il serait possible d'utiliser des CGR conservés plus de 5 jours, sans effets néfastes chez

le nouveau-né, mais la transfusion chez le nouveau-né requiert une irradiation et le CGR irradié par consensus professionnel chez le nouveau-né doit être de moins de 5 jours ; il se conservera moins de 24 heures après irradiation.

Transfusion chez le fœtus

Il peut s'agit d'une anémie sévère liée à une allo-immunisation dans le système RH ou dans d'autres systèmes de groupes sanguins, ou d'une anémie liée à une infection par le parvovirus B19 ou à une hémorragie fœtomaternelle massive. Le but est de prolonger la durée de la grossesse, tout en améliorant l'oxygénation tissulaire fœtale. Les CGR utilisés ont moins de 5 jours, avec un contenu en hémoglobine et un hématocrite (si possible autour de 80 %) connus, de groupe O, dépourvus d'hémolysine, compatibilisés avec le sérum de la mère, en respectant l'antigéno-compatibilité avec la mère dans les systèmes RH:1 à 5 et KEL:1, enfin irradiés.

Transfusion chez le nouveau-né

La notion de seuil transfusionnel n'est pas définie chez le prématuré, une fois passée la phase des complications vitales des premiers jours, et chez le prématuré asymptomatique. Il est proposé de retenir, à titre indicatif, les seuils au-delà desquels une transfusion de CGR n'est *a priori* pas indiquée : 12 g/dl au cours de la période initiale des soins intensifs ; 10 g/dl au cours de la période suivante des 2 premières semaines de vie ; 7 g/dl et un taux de réticulocytes de 100 000 mm^3 ultérieurement. Dans ce contexte, l'indication dépend aussi de la tolérance clinique : une tachycardie, une mauvaise prise de biberon sont de véritables indications transfusionnelles.

Exsanguino-transfusion chez le nouveau-né

Elle est essentiellement indiquée en cas de maladie hémolytique, dans le but de soustraire des anticorps immuns dirigés contre les hématies du nouveau-né, d'épurer la bilirubine libre et de corriger l'anémie. Le seuil d'indication croît progressivement avec l'âge postnatal jusqu'au 3e jour de vie. Il est abaissé chez le prématuré ou l'enfant de faible poids de naissance et lorsque des conditions susceptibles d'altérer la barrière hémato-encéphalique immature existent ou ont existé, telles qu'une souffrance fœtale aiguë ou une acidose métabolique : 340 à 430 μmol/l de bilirubine totale chez le nouveau-né à terme ayant une immunisation RH, à partir du 3e jour ; jusqu'à 540 μmol/l dans les ictères observés chez le nouveau-né à terme sain, en l'absence d'immunisation RH. Le volume échangé est supérieur à deux fois le volume sanguin total de l'enfant. La volémie du nouveau-né est habituellement de 80 ml/kg.

5.3 Transfusion de concentrés plaquettaires

Les plaquettes, « cellules » anucléées de 2 à 3 μm, sont les plus petites des cellules sanguines ; leur demi-vie est de 10-12 jours. Elles ont un rôle central dans la fonction hémostatique et participent également aux processus thrombotiques. Lorsqu'une brèche vasculaire se crée, les plaquettes exposées à la matrice sous-endothéliale sont activées et subissent des modifications morphologiques qui leur permettent de se lier aux structures sous-jacentes des sites lésés, ainsi qu'à d'autres plaquettes, pour former le clou plaquettaire. Celui-ci colmate la brèche et arrête le saignement. La liaison des plaquettes aux neutrophiles renforce ce clou, qui se structure avec les facteurs de coagulation. Après réparation de la lésion, la dissolution du clou — jointe à la fibrinolyse — achève la cicatrisation de l'endothélium lésé.

Le chiffre de plaquettes est normalement supérieur à 150×10^9 par litre. Les patients ayant un taux inférieur à 150×10^9 par litre sont susceptibles de saigner. Ces saignements sont habituellement, au début, localisés dans la peau ou les muqueuses, puis peuvent ensuite s'étendre, voire atteindre d'emblée des organes vitaux, ce qui fait toute la gravité des thrombopénies sévères.

La transfusion de concentrés plaquettaires est majeure de la thérapeutique transfusionnelle ; 250 000 concentrés plaquettaires sont transfusés annuellement en France ; 55 % de ces plaquettes sont préparées sous forme de concentrés plaquettaires d'aphérèse (CPA), les 45 % restant l'étant à partir de plaquettes issues de dons de sang total, en « mélange de concentrés plaquettaires standards » (MCPS) ; ce ratio est susceptible d'évoluer encore. Plus de 80 % des concentrés plaquettaires sont transfusés dans les services de médecine, essentiellement en onco-hématologie. La transfusion de concentrés plaquettaires constitue un support incontournable pour la prise en charge des malades présentant une aplasie chimio- et/ou radio-induite. Elle permet des intensifications thérapeutiques autrefois limitées par leur toxicité médullaire. Pour d'autres malades (myélodysplasie, aplasie médullaire), elle représente souvent le seul traitement disponible. En milieu chirurgical, la possibilité de transfuser des concentrés plaquettaires autorise la réalisation d'interventions chirurgicales chez des patients présentant un déficit plaquettaire quantitatif ou qualitatif.

L'absence, à court et moyen terme, de produits de substitution laisse augurer que la consommation de concentrés plaquettaires va encore s'accroître dans les années qui viennent, au fur et à mesure de l'émergence de nouvelles thérapeutiques ; les concentrations en plaquettes des concentrés font cependant l'objet de débats passionnés dans la communauté internationale et les recommandations pourraient évoluer, ce qui pourrait

tempérer le besoin potentiellement accru lié à l'implémentation progressive de techniques de réduction ou d'inactivation de pathogènes, qui entraîne une perte *in process* d'environ 7 à 10 % de matière première. En revanche, l'implémentation probable de procédés de détection de bactéries dans les concentrés de plaquettes dont on sait qu'ils génèrent des faux positifs, va aussi vraisemblablement disqualifier des produits et de ce fait augmenter les besoins des produits qualifiables.

La transfusion de concentrés plaquettaires est à l'origine de près de la moitié des effets indésirables immédiats ou retardés transfusionnels, alors qu'elle ne concerne que 10 % des produits ; ces complications peuvent être occasionnellement graves. Ces risques expliquent l'importance de définir parfaitement, pour chaque situation clinique, l'indication et la qualité des produits à transfuser. La stratégie en matière de transfusion de concentrés plaquettaires dépend de critères multiples et ne fait pas toujours l'objet d'un consensus, en particulier en ce qui concerne les « seuils » transfusionnels, les quantités de plaquettes à administrer et la conduite à tenir au cours d'états dits « réfractaires » aux transfusions.

Transformations et qualifications des concentrés plaquettaires

Le don de sang total et le prélèvement par aphérèse sont les deux modalités pour obtenir des concentrés plaquettaires.

La première permet, à partir des 450 à 500 ml de sang collecté, d'élaborer, par centrifugation et extraction des globules rouges et du plasma, une couche leuco-plaquettaire. Après une seconde centrifugation, le CPS obtenu est apparié avec d'autres CPS provenant de dons différents, pour constituer un MCPS, dont la richesse en plaquettes est directement liée au nombre de dons utilisés (réglementairement de deux à douze). En pratique, quatre à six dons sont mélangés, constituant un concentré plaquettaire de 3 à 4×10^{11} plaquettes en moyenne. Des méthodes de traitement automatisé apparues plus récemment augmentent la récupération des plaquettes et du plasma (en utilisant une solution additive) et diminuent la perte en hémoglobine. La technique de récupération de plaquettes à partir de plasmas riches en plaquettes n'est plus pratiquée en France à ce jour.

La seconde modalité permet, par aphérèse, à partir d'un seul donneur, d'obtenir une quantité plus importante de plaquettes (en moyenne $5{,}1 \times 10^{11}$).

L'addition de solutions additives (66 %) est à présent la règle tant pour les concentrés d'aphérèse que pour les mélanges ; malgré cela, la quantité résiduelle de plasma de 33 % représente un volume encore important, justifiant que soit appliquée à la transfusion plaquettaire la politique de sécurité liée aux plasmas thérapeutiques eu égard à l'éviction des anticorps

anti-HLA issus d'immunisation, à savoir des dons masculins ou de femmes n'ayant pas eu de grossesses ou dont le plasma est qualifié anticorps anti-HLA négatif. Cela est appliqué sur 100 % des CPA et une politique d'extension graduelle est déployée pour les MCPS.

Pour satisfaire aux besoins spécifiques de chaque malade, plusieurs transformations ou qualifications peuvent être appliquées à ces produits de base. Certaines sont réalisées *a priori*, comme la qualification « CMV-négatif » et le phénotype HLA/HPA (dans ou *via* le laboratoire de qualification biologique des dons) ; d'autres sont réalisées secondairement lorsque l'indication les justifie. La transformation modifie la qualité et/ou la quantité du concentré plaquettaire (volume, adjonction d'une solution, modification qualitative ou quantitative d'un constituant, réducteur de pathogènes, etc.). La qualification, en revanche, ne modifie ni l'une ni l'autre, mais y ajoute certaines caractéristiques provenant du donneur.

La nature de chaque produit sanguin répond à un code à cinq chiffres inscrit sur l'étiquette du concentré plaquettaire. Selon la transformation subie, les quatre derniers changent selon une combinatoire qui, pour les concentrés plaquettaires, engendre plus d'une cinquantaine de produits différents.

Transformations

Déleucocytation

Les concentrés plaquettaires sont systématiquement déleucocytés (pour un taux de globules blancs résiduels inférieur à 10^6/unité), soit par filtration (MCPS et CPA) soit par élutriation (CPA). La déleucocytation systématique des produits sanguins labiles a pratiquement fait disparaître l'apparition d'anticorps anti-HLA, l'immunisation résiduelle constatée étant considérée comme uniquement liée à la réactivation d'anticorps apparus au décours de grossesses antérieures.

Préparation pédiatrique

La préparation pédiatrique consiste à diviser aseptiquement un produit en plusieurs sous-unités. Ce fractionnement secondaire n'est réglementairement possible que pour les CPA. Cette subdivision, limitée à quatre à partir d'une unité adulte, vise à adapter la quantité de plaquettes en maintenant un seul donneur par dose thérapeutique. Le produit fractionné conserve la date de validité du produit d'origine si le circuit n'a pas été ouvert. Le volume minimal du concentré plaquettaire défini réglementairement est de 50 ml.

Réduction de volume

Cette transformation est justifiée pour limiter l'apport volémique tout en conservant une quantité optimale de plaquettes (le produit est essentiellement

indiqué en pédiatrie). Cette réduction du volume plasmatique résiduel (par centrifugation, puis par extraction d'une partie du surnageant) impose l'utilisation du concentré plaquettaire dans les 6 heures qui suivent sa préparation, du fait de l'ouverture du circuit. La concentration plaquettaire maximale acceptable doit correspondre à une unité thérapeutique de $0,5 \times 10^{11}$ plaquettes par 25 ml de plasma.

Irradiation

Cette transformation est réalisée dans le but d'éviter une réaction du greffon contre l'hôte post-transfusionnelle (GVH) chez le receveur — une telle réaction est médiée par les lymphocytes résiduels contenus dans le concentré plaquettaire, pourtant déleucocyté : ils sont inactivés par la procédure d'irradiation. En France, le risque est extrêmement faible (un cas déclaré en 13 ans) et considéré dans la littérature comme théorique si le taux résiduel de leucocytes est inférieur à 8×10^4. L'irradiation (par rayons X ou rayons gamma, suivant la source d'irradiation, avec une dose de 25 à 45 Gy) n'altère que modérément les qualités fonctionnelles des plaquettes. L'utilisation de concentrés plaquettaires irradiés est indiquée chez les patients immunodéprimés, y compris lors des transfusions *in utero* et chez le grand prématuré : greffe de cellules souches hématopoïétiques (allogreffe ou autogreffe), déficit immunitaire congénital (combiné sévère ou cellulaire : syndrome de Di Georges, ataxie-télangiectasie) et pour les patients traités par des analogues des purines (fludarabine) ou profondément immunodéprimés comme au décours de certains lymphomes. Les CPA phénotypés et cross-matchés ou ceux transfusés dans le cadre d'un don intrafamilial doivent être irradiés (le risque est ici majoré par une possible identité HLA). Cette transformation ne se justifie pas pour les patients infectés par le VIH, et ce quel que soit le stade de la maladie. On note que l'application d'un procédé de réduction de pathogènes — actuellement, seul le procédé amotosalen-HCl/UVA, ou Intercept®, est autorisé en France — inactive les leucocytes de façon tout à fait satisfaisante, de façon plus stable en fait que l'irradiation ; cela étant, si cette substitution peut être autorisée par accord professionnel, elle n'est pas inscrite dans la fiche technique du procédé (ANSM).

Déplasmatisation

Le plasma résiduel peut être à l'origine de réactions d'intolérance clinique chez les patients transfusés, soit par le biais de ses constituants (immunoglobulines), contre lesquels le patient a pu synthétiser des anticorps, soit en raison de la présence de substances leucocytaires ou plaquettaires relarguées lors de la préparation (ou de la conservation) du produit, soit par l'apport passif d'immunoglobulines (IgE). L'efficacité de la déplasmatisation est attestée par une quantité résiduelle de protéines dosée dans le surnageant inférieure ou égale à 0,5 g/l. Cette manipulation induit une

perte en principe actif (perte en plaquettes pouvant atteindre 20 %) et un moins bon rendement post-transfusionnel. En cas d'allo-immunisation du receveur (anticorps anti-IgA), la déplasmatisation demeure la méthode de choix pour prévenir une réaction anaphylactique. En revanche, chez les patients déficitaires en IgA (un cas sur 700 individus) et en l'absence d'allo-immunisation, la déplasmatisation ne se justifie pas.

Adjonction de solutions additives

Les solutions additives sont des solutions de conservation qui se substituent pour 60 à 70 % au plasma des concentrés plaquettaires, soit lors du prélèvement (CPA), soit au moment de la préparation primaire (MCPS). L'introduction de solutions additives a eu pour objectif de réduire de manière significative les incidents de nature allergique, de diminuer par simple dilution l'apport d'anticorps à l'origine du TRALI (anticorps HLA/HNA) ou d'hémolyse (anticorps ABO), et d'augmenter la quantité de plasma orienté vers le centre de fractionnement (LFB en France) ; la fréquence des incidents de nature inflammatoire a également diminué. Tous les CP bénéficient à ce jour de solutions additives en France, sauf exception. La mise en solution additive est une étape requise pour la méthode d'inactivation virale Intercept® actuellement appliquée au concentré plaquettaire. La qualité fonctionnelle des concentrés plaquettaires en solution de conservation est conservée *in vitro* et ne semble que peu (ou pas) diminuée *in vivo*.

Viro-atténuation

Actuellement, l'application des procédés de réduction des pathogènes est dénommée EDQM.

Les concentrés plaquettaires sont des produits sanguins pour lesquels un traitement d'atténuation virale est possible. Tous les concentrés plaquettaires distribués à ce jour n'en bénéficient cependant pas. La méthode Intercept® repose sur l'introduction, au cours des 24 heures suivant le prélèvement, dans le concentré plaquettaire mis en solution additive, d'un psoralène (amotosalen ou S-59) qui s'intercale dans les brins d'ARN ou d'ADN pour former des liaisons irréversibles après illumination par les UVA. Ce traitement d'inactivation est non seulement efficace contre les virus (y compris le CMV), mais aussi contre les parasites et les bactéries potentiellement présents dans le produit. En outre, son action sur les lymphocytes résiduels permet de se dispenser de l'irradiation lorsque celle-ci est indiquée. Le corollaire de ce traitement est une perte en plaquettes d'environ 5 à 10 % au décours du processus ; la question d'un rendement post-transfusionnel inférieur lié à l'altération des plaquettes est encore discutée. Un second procédé (Mirasol®) fait appel à un autre agent intercalant, la riboflavine (vitamine B2), et à une illumination dans un spectre plus large et de plus haute énergie (UVA/UVB et un peu d'UVC). Cette méthode est applicable à des concentrés plaquettaires conservés dans 100 % de plasma,

ce qui est à la fois un avantage fonctionnel et un inconvénient vis-à-vis des risques d'intolérance et inflammatoires ; une évolution vers la compatibilité avec les solutions de conservation est étudiée ; le procédé est toujours en cours d'évaluation et n'est pas à ce jour déployé en France.

Cryoconservation

La cryoconservation est un procédé coûteux qui permet de conserver les concentrés plaquettaires durant une période de 2 ans (conservation entre − 60 °C et − 85 °C) à 3 ans (conservation inférieure à −130 °C) grâce à l'adjonction préalable d'un cryoprotecteur (DMSO). La décongélation peut être couplée à un lavage suivant la concentration utilisée de DMSO (de 2 à 6 %). Le produit doit être utilisé dans les 6 heures suivant la décongélation. La cryoconservation ne se justifie que dans certains cas particuliers : conservation de CPA phénotypé HLA et HPA (groupe HPA-1a, HPA-5b ou HPA-3b essentiellement) ou, plus rarement, uniquement testé vis-à-vis des antigènes HLA pour utilisation chez des malades allo-immunisés. La ressource et la disponibilité sont limitées par le nombre de sites EFS agréés, le nombre d'unités congelées et le délai de mise à disposition (au minimum 4 heures). À visée essentiellement curative, les concentrés plaquettaires cryoconservés, pour lesquels la perte en plaquettes lors de décongélation est importante (environ 50 %), ont un mauvais rendement post-transfusionnel, mais une efficacité hémostatique avérée. Le traitement des thrombopénies néonatales par allo-immunisation fœtomaternelle dirigée contre les antigènes HPA a été une indication de choix. Ces produits du fait des faibles doses nécessaires en raison du petit poids du nouveau-né sont cependant très discutés du fait de la rationalisation efficace de la prise en charge des thrombopénies fœtomaternelles dans le cadre de certains autres protocoles.

Qualifications

Phénotypé

La qualification dans les systèmes HLA et/ou HPA des concentrés plaquettaires n'est applicable qu'au CPA. Le phénotype HLA de classe I est réalisé sur le donneur. Dans de nombreux systèmes transfusionnels, seules ces qualifications phénotypées justifient la pratique des procédures actuelles.

Compatibilisé

La qualification « compatibilisé » s'applique au CPA phénotypé destiné à un patient immunisé dans les systèmes HLA et/ou HPA et qui, avec des techniques appropriées, est potentiellement compatible avec le sérum du patient. La réalisation de ce test est limitée par le nombre restreint des laboratoires d'immunologie leuco-plaquettaire sur le territoire national et les grandes difficultés techniques de réalisation.

Cytomégalovirus-négatif

Le cytomégalovirus (CMV) est un virus intraleucocytaire. La recherche d'anticorps anti-CMV est effectuée par les plateaux techniques de « qualification biologique des dons » sur un échantillon de sang du donneur prélevé au moment du don. La forte prévalence des anticorps, témoignant d'une infection ancienne et donc du portage éventuel du virus, augmentant graduellement avec l'âge, la disponibilité des CPA CMV-négatifs peut être problématique. Bien que possible, une qualification CMV-négatif des MCPS n'est pratiquement jamais acquise du fait du nombre de donneurs sollicités. La déleucocytation systématique du concentré plaquettaire (à moins de 10^6 leucocytes résiduels) représente une alternative pour prévenir la transmission du virus. Le pourcentage d'échec dans la prévention de cette transmission avec l'une ou l'autre de ces méthodes semble équivalent. Du fait de la gravité potentielle de cette transmission dans certaines pathologies, les bonnes pratiques cliniques recommandent l'utilisation de produits CMV-négatifs (et déleucocytés) à des patients immunodéprimés sérologiquement négatifs vis-à-vis du virus : allogreffés de CSH (avec donneur CMV-négatif), greffés pulmonaires (quel que soit le statut du donneur), transfusions *in utero* et transfusion chez la femme enceinte (protection du fœtus). La possibilité de disposer de produits plaquettaires soumis préalablement à une méthode de réduction de pathogène validée permet de s'affranchir de cette qualification. La qualification CMV demeure sur le territoire français mais n'est pas recommandée à tout prix.

Organisation de la distribution et de la délivrance

La délivrance des concentrés plaquettaires est encadrée de manière précise par des textes réglementaires (bonnes pratiques de distribution). Des recommandations de bonnes pratiques cliniques en transfusion sanguine sont, par ailleurs, régulièrement mises à jour par l'ANSM afin de guider les prescripteurs dans le choix et l'utilisation des CP. Malgré cela, la disponibilité des CP et la réalisation effective de la délivrance se heurtent à des nombreuses contraintes qui justifient une organisation transfusionnelle rationnelle.

Contraintes de conservation des concentrés plaquettaires

La disponibilité des concentrés plaquettaires est limitée par deux facteurs : la courte durée de vie du produit et ses conditions de stockage contraignantes. Les concentrés plaquettaires se périment en effet 5 jours après le

don (réglementairement heure pour heure à partir du prélèvement). Ils ne sont disponibles en règle générale que 24 à 36 heures après celui-ci, du fait des analyses à réaliser sur le don, de la préparation nécessaire pour finaliser le produit et du temps de mise à disposition sur l'unité de distribution. Ils doivent être conservés en agitation continue dans des enceintes spécifiques, thermostatées, afin de maintenir une température constante entre 20 et 24 °C. Le fait de conserver le concentré plaquettaire en dessous de ce seuil (< 18 °C) altère la qualité fonctionnelle des plaquettes, en agissant notamment sur la protéine membranaire de la plaquette GP1b (ligand du facteur Willebrand). La conservation au-dessus de 24 °C augmente significativement le risque de prolifération d'un agent bactérien éventuellement présent dans le concentré plaquettaire. Le sens de l'agitation durant la conservation a son importance dans la préservation de la qualité des plaquettes (l'agitation par rotation a été abandonnée au profit d'un sens de va-et-vient horizontal ou vertical). L'arrêt momentané de cette agitation durant plusieurs heures (par exemple avant un acte transfusionnel) n'est pas délétère.

Un des paramètres critiques de bonne conservation du produit est l'évolution du pH lors du stockage. Son abaissement est lié à l'activité métabolique cellulaire : il augmente durant le stockage et cette augmentation s'accélère significativement en cas de contamination bactérienne. En dessous d'un pH à 6,4, les plaquettes deviennent sphériques. Cette altération irréversible peut être dépistée au moment de la délivrance par un test d'inspection visuelle : l'indice de tournoiement, ou *swirling* (qui consiste à visualiser le nuage plaquettaire du concentré plaquettaire par exposition à une lumière incidente). Ce test simple et robuste doit être pratiqué systématiquement avant la délivrance.

Contraintes de disponibilité

Du fait de son utilisation moindre (un CPA/MCPS transfusé pour sept CGR en France), de son coût de production et du risque de péremption (soulevant une problématique éthique et financière), le concentré plaquettaire n'est pas constamment disponible partout et/ou en permanence. Les critères de prise en charge des hémorragies massives, qui étaient volontiers restrictifs (utilisation des concentrés plaquettaires et de plasma après une perte d'une masse à une masse et demie en moins de 24 heures), évoluent vers une utilisation plus large selon le modèle « 1 CGR/1 PFC/1 unité CPS », et influenceront l'organisation des services de distribution de produits sanguins et des plateaux d'urgence hospitaliers en capacité de prendre en charge ces pathologies.

Plusieurs éléments d'analyse peuvent guider les options visant à garantir une disponibilité acceptable des concentrés plaquettaires, dans un contexte

chirurgical ou obstétrical, où la transfusion plaquettaire peut être urgente et moins prévisible que dans une situation de prise en charge en onco-hématologie :

- la proximité d'un site transfusionnel ou d'un dépôt de sang : si de nombreux sites peuvent conserver des concentrés plaquettaires, cette disponibilité n'est pas constante. L'assurance de disposer d'un concentré plaquettaire dans les 30 minutes est néanmoins suffisante en termes de sécurité ;
- le choix entre MCPS ou CPA est de peu d'importance, les deux produits ayant des propriétés hémostatiques équivalentes, comme on le verra plus loin. En revanche, l'un étant fractionnable (CPA) et l'autre pas, la question peut se poser en milieu pédiatrique ;
- le choix d'un concentré plaquettaire en fonction du groupe ABO n'est pas essentiel ; néanmoins, il est recommandé de privilégier la compatibilité cellulaire, puis plasmatique, pour lesquelles on dispose d'études montrant une meilleure efficacité clinique. Il est aussi préférable de disposer de concentrés plaquettaires non isogroupe en solution additive pour réduire l'apport d'anti-A et/ou d'anti-B en situation d'incompatibilité plasmatique.

Conditions de délivrance des concentrés plaquettaires

L'acte de délivrance par un site transfusionnel (ou par un dépôt de sang autorisé) consiste en une attribution nominative sur prescription médicale. Plusieurs données du patient doivent être communiquées, permettant au site transfusionnel d'assurer la sécurité immunologique et l'efficacité transfusionnelle, de dépister et de prévenir des effets indésirables et de fournir un conseil transfusionnel adapté :

- *le groupe ABO* : la connaissance de ce groupe permet de choisir le produit le plus adapté (ABO isogroupe). Néanmoins, en l'absence de celui-ci, l'unique condition à observer est d'utiliser un concentré plaquettaire dont le plasma ne contient pas un titre élevé d'anti-A et/ou d'anti-B (absence de la mention « à réserver à une transfusion isogroupe » sur l'étiquette du produit sanguin). La RAI (« recherche d'anticorps antiérythrocytaires ») est inutile. La notion d'une allo-immunisation HLA et/ou HPA est essentielle pour la prise en charge transfusionnelle ;
- *le groupe RH:1* (« *D positif*») : sa connaissance est nécessaire dans le cas d'une transfusion de concentré plaquettaire provenant d'un donneur D positif à un receveur D négatif. Les concentrés plaquettaires contiennent en effet entre 0,005 et 0,5 ml de globules rouges, quantité suffisante pour induire une allo-immunisation anti-D chez un sujet immunocompétent. La prévention de celle-ci repose sur une immunoprophylaxie (Ig anti-D par voie IV) administrée au décours de la transfusion et au maximum dans les 72 heures suivantes ;

• *la numération plaquettaire pré- et post-transfusionnelle* : sa communication permet au site transfusionnel d'apprécier l'urgence, de dépister d'éventuels états réfractaires et d'assurer le conseil transfusionnel le plus judicieux ;
• *la pathologie, les circonstances cliniques, la notion d'événements indésirables antérieurs* : elles permettent d'apprécier la pertinence de l'indication (en cas de thrombopathie, par exemple), d'adapter le concentré plaquettaire qualitativement (qualifications ou transformations : irradiation, CMV-négatif, déplasmatisation, réduction de volume) et d'actualiser le dossier transfusionnel du patient par le biais de protocoles transfusionnels ;
• *le poids du patient* : cette information essentielle permet d'allouer la dose thérapeutique la plus adaptée et d'ajuster éventuellement le volume (plasmatique) du concentré plaquettaire en fonction des caractéristiques physiologiques du patient.

Indications des concentrés plaquettaires

Règles générales

La transfusion de concentrés plaquettaires est indiquée chez les patients présentant une thrombopénie centrale due à un déficit quantitatif ou qualitatif de la production plaquettaire. Plus rarement, elle peut être aussi proposée à des malades présentant un syndrome hémorragique dû à une thrombopathie, en l'absence de thrombopénie. Ces règles excluent en théorie les patients présentant une thrombopénie périphérique, quel qu'en soit le mécanisme (immunologique, troubles de la répartition, consommation ou déplétion) ; ces patients relèvent du traitement spécifique de la cause puisque les plaquettes transfusées seraient détruites comme les plaquettes autologues.

Cette règle souffre cependant d'exceptions et il est requis de transfuser, par exemple, les patients présentant une thrombopénie due à une coagulation intravasculaire disséminée ou au cours d'une circulation extracorporelle ou encore les patients présentant une thrombopénie de déplétion au décours d'hémorragies massives. La transfusion doit alors être envisagée pour passer un cap lorsqu'une hémorragie constituée ou un risque important d'apparition de celle-ci existent, en association avec le traitement curateur de la cause.

De même, bien que la transfusion de plaquettes ne soit considérée comme efficace que lorsqu'un rendement post-transfusionnel est observé (autrement dit, une augmentation du taux de plaquettes), il est souvent proposé de transfuser des plaquettes lorsqu'un syndrome hémorragique existe dû à la thrombopénie et menaçant le pronostic vital, comme c'est le cas d'un purpura thrombopénique immunologique sévère ou d'une thrombopénie centrale chez un patient allo-immunisé ne disposant pas de donneurs

compatibles. Dans ces situations, même si aucun rendement de la transfusion n'est observé, celle-ci est considérée comme ayant un effet hémostatique immédiat qui pourrait limiter les conséquences de l'hémorragie.

Trois questions essentielles sont discutées dans la littérature :

- doit-on transfuser de manière préventive les patients ayant un chiffre de plaquettes inférieur à un seuil déterminé ou doit-on les transfuser lorsque, seulement, coexistent un syndrome hémorragique ou un risque important d'apparition de celui-ci ?
- à quel seuil transfusionnel doit-on transfuser les malades en concentrés plaquettaires ? Cette discussion revient à déterminer le taux de plaquettes à partir duquel existe un risque de syndrome hémorragique ;
- quelle dose de plaquettes doit-on administrer à chaque transfusion et quelle doit être la fréquence de cette administration ?

Attitude transfusionnelle : préventive ou curative ?

Deux attitudes transfusionnelles peuvent être proposées :

- l'attitude préventive (« prophylactique ») a pour objectif d'éviter la survenue d'un syndrome hémorragique en maintenant la numération plaquettaire au-dessus d'un certain seuil. Elle s'adresse à des malades potentiellement curables ou ayant une espérance de vie prolongée ou chez lesquels on peut espérer que la durée de la thrombopénie sera relativement limitée, de quelques semaines à quelques mois. Cette attitude est assez controversée actuellement en particulier dans les pays anglo-saxons ;
- l'attitude curative vise à interrompre une hémorragie sévère qui ne cède pas ou à la prévenir lorsqu'elle apparaît comme imminente. Elle est proposée aux patients présentant une pathologie non curable ou dont l'espérance de vie est limitée. L'intérêt de l'attitude curative est de réduire le nombre d'actes transfusionnels et donc les coûts liés à la transfusion ; son désavantage est lié au risque accru d'hémorragies graves.

La préférence CPA/MCPS ne se justifie plus dans ces deux attitudes, autrement que pour gérer une situation de conflit immunologique HLA/HPA.

Ces attitudes ne sont cependant pas nécessairement antagonistes : elles peuvent se succéder dans le temps en fonction de l'évolution de la maladie et de l'état d'immunisation du patient. Un faisceau d'arguments est cependant en faveur, lorsque cela est possible, d'une attitude prophylactique, au moins chez les malades bénéficiant d'une greffe de moelle osseuse et/ou chez ceux en induction par chimiothérapie pour une leucémie aiguë.

Domaines pathologiques et seuils transfusionnels (hors néonatalogie)

Le seuil transfusionnel est défini comme le taux de plaquettes en deçà duquel il existe un risque important d'apparition d'un syndrome hémorragique.

On exclut de ce chapitre les thrombopathies, pour ne considérer que les thrombopénies.

Situations chirurgicales

Les indications relèvent le plus souvent de la prévention d'un accident hémorragique lié à l'acte chirurgical, en présence d'une thrombopénie constatée en pré- ou préopératoire : l'attitude est donc prophylactique. Plus rarement, la thrombopénie est due à une déplétion liée à une hémorragie massive. Si la thrombopénie est non curable médicalement avant l'intervention, les indications de la transfusion de concentrés plaquettaires sont définies en fonction de l'appréciation du risque hémorragique, lequel dépend de la nature de l'intervention, des caractéristiques du malade et de l'existence (ou non) de troubles associés de la coagulation ou de l'hémostase primaire. Cette appréciation permet de définir des seuils transfusionnels consensuels.

En l'absence de facteur de gravité, le taux de plaquettes pendant et après l'intervention ou le geste invasif doit être maintenu au-dessus de 50×10^9 par litre.

Les interventions sur le système nerveux central ou l'œil imposent de maintenir le taux de plaquettes au-dessus de 100×10^9 par litre, même en l'absence de facteur aggravant, en raison des risques de complications hémorragiques compressives pouvant menacer le pronostic fonctionnel ou vital. Les interventions sur les gros vaisseaux ou au foie nécessitant une circulation extracorporelle justifient le maintien du taux de plaquettes au-dessus de 50-80 $\times 10^9$ par litre. Lors des transplantations hépatiques, le taux de plaquettes per- et postopératoire doit être maintenu au-dessus de 50×10^9 par litre. En cas de transfusion massive supérieure à une masse sanguine, la survenue fréquente de troubles de l'hémostase justifie de maintenir le même taux et d'associer la transfusion de plasma en vue de corriger le déficit en facteurs de la coagulation.

En onco-hématologie

Nous n'abordons ici que des thrombopénies centrales, chimio-induites ou liées à la maladie causale (aplasie médullaire, myélodysplasie). Le choix du seuil transfusionnel auquel il convient de transfuser des concentrés plaquettaires ne fait pas, à ce jour, l'objet d'un consensus. En effet, il n'existe pas de modèle idéal de mesure du risque hémorragique, la numération plaquettaire n'étant pas, à elle seule, le reflet exact du risque d'hémorragie grave, sauf en cas de thrombopénie extrême (sous 5×10^9 par litre). D'autres facteurs, inhérents aux malades, interviennent dans l'appréciation de ce risque.

Les premiers travaux ont montré qu'il existait une corrélation statistique entre le taux de plaquettes et la fréquence et la sévérité des manifestations hémorragiques, aucune hémorragie grave n'étant observée lorsque les malades avaient plus de 20×10^9 plaquettes par litre. La possibilité de

pouvoir abaisser ce seuil à 10×10^9 par litre, voire à 5×10^9 par litre, a donc été proposée. Quatre études ont montré qu'il n'existe pas de différence en termes de fréquence du syndrome hémorragique, que les patients soient transfusés au seuil de 10×10^9 par litre ou à celui de 20×10^9 par litre, s'ils ne présentent pas d'autres facteurs de risque hémorragique, bien que la consommation de concentrés plaquettaires soit plus importante dans le second groupe. Ces données suggèrent donc que le seuil transfusionnel pourrait être abaissé à 10×10^9 par litre en l'absence de facteur aggravant le risque hémorragique (tableau 5.4). De nombreux spécialistes contestent

Tableau 5.4. Facteurs aggravant le risque transfusionnel et modulant le seuil transfusionnel en hématocancérologie.

Facteur de risque associé	Seuil transfusionnel
Aucun facteur de risque	10×10^9 plaquettes/l (?)
Fièvre ≥ 38,5 °C	20×10^9 plaquettes/l
Sepsis évolutif, documenté ou non	
Anomalies mineures de la coagulation	
Thrombopathies	
Héparinothérapie à dose isocoagulante	
Envahissement médullaire blastique avant traitement	
Anémie sévère	
Hyperleucocytose > 100×10^9/l	
Chute de plus de 50 % du taux de plaquettes dans les 72 heures précédant la transfusion	
Purpura extensif, hémorragie au fond d'œil	
Lésions anatomiques (mucite, ulcère, atteinte du système nerveux central)	
Hypertension artérielle non contrôlée	
Gestes invasifs (pose de cathéter, pose de chambre implantable, fibroscopies ± biopsies, lavage bronchoalvéolaire, ponction-biopsie hépatique, ponction lombaire)	$50\text{-}80 \times 10^9$ plaquettes/l
Chirurgie (per- et postopératoire)	
Hémorragie sévère constituée	
Héparinothérapie à dose hypocoagulante	
Traitement fibrinolytique en phase aiguë de maladie veino-occlusive	
Coagulation intravasculaire disséminée ou anomalies sévères de la coagulation*	

* Sauf cas particuliers, les anomalies sévères de la coagulation sont définies par un taux de prothrombine < 30-40 % et/ou un taux de fibrinogène < 1,5 g/l.

cependant cette conclusion, arguant du fait que les hémorragies mortelles ont été observées dans le seul groupe traité à des seuils de 10×10^9 par litre et que, même si la différence en termes d'hémorragies mortelles n'est pas significative, le caractère rare de celles-ci pourrait masquer d'éventuelles différences.

Doses transfusionnelles

La dose optimale de plaquettes par transfusion peut se définir comme la dose permettant d'assurer la sécurité du patient (prévention du syndrome hémorragique et diminution des effets induits) au prix d'une quantité totale de plaquettes transfusées la plus faible possible. Les recommandations habituelles proposent l'utilisation d'une dose standard de $0{,}5 \times 10^{11}$ plaquettes par 10 kg de poids, ce qui correspond classiquement à une unité CPS par 10 kg. Ces doses sont souvent supérieures chez l'enfant ($0{,}7 \times 10^{11}$/10 kg) ce qui correspond à 1 unité pour 7 kg de poids.

Plusieurs essais cliniques prospectifs ont remis en cause ce dogme dans la décennie 1990-2000. Ils ont montré que la transfusion de hautes doses de plaquettes augmentait de façon significative la recirculation plaquettaire post-transfusionnelle et l'intervalle entre les transfusions. Bien qu'aucune démonstration n'ait été formellement établie, ces résultats laissaient supposer une diminution de la consommation de concentrés plaquettaires en utilisant cette méthode et permettaient d'anticiper une diminution des effets secondaires liés à la moindre exposition au sang de donneurs différents chez ces patients. Ainsi, à cette époque, il a été proposé de transfuser des doses de 0,7 à $0{,}8 \times 10^{11}$ plaquettes par 10 kg de poids.

Depuis les années 2000, d'autres travaux ont cherché à reconnaître l'efficacité d'une stratégie utilisant de plus faibles doses de plaquettes. Cette recherche a été autorisée par le fait que les effets secondaires de la transfusion sont perçus comme beaucoup moins fréquents qu'auparavant, que le coût financier des transfusions est important et doit donc être réduit au maximum et que, du fait de l'augmentation des indications de concentrés plaquettaires, l'autosuffisance pourrait être en cause. Une étude qui comparait des faibles doses de plaquettes, non ajustées en fonction du poids du malade, à de plus fortes doses (1,5 à 3×10^{11} *versus* 3 à 6×10^{11}) a dû être interrompue en raison de la survenue d'un nombre plus important d'hémorragies graves ou mortelles dans le groupe des patients recevant de faibles doses de plaquettes. Une seconde étude, qui comparait des doses de $1{,}10 \times 10^{11}/m^2$ de surface corporelle à des doses doubles ou quadruples n'a pas abouti aux mêmes conclusions : il n'y avait pas, en effet, de différence de mortalité entre les différents groupes et la consommation de plaquettes était, malgré une fréquence plus importante d'épisodes transfusionnels, diminuée de près de 20 % dans le groupe de patients recevant de faibles doses de plaquettes.

Tous ces éléments ne permettent donc pas de trancher de manière formelle quant à la dose à utiliser. Il semble cependant que des doses plus faibles que celles préconisées jusqu'à ce jour (de l'ordre de 0,25 à $0,3 \times 10^{11}$ par 10 kg) soient suffisantes pour assurer l'hémostase chez des patients sans facteur de gravité surajouté et permettent d'économiser des concentrés plaquettaires dans une période où la ressource disponible risque d'être moindre. Les doses prescrites en France excèdent largement les standards américains en particulier ; aussi faut-il être attentif à ce sujet lors de la lecture d'articles scientifiques.

Évaluation de l'efficacité des transfusions

L'efficacité des transfusions est classiquement appréciée par la mesure de la recirculation des plaquettes transfusées. Cette recirculation peut être évaluée en calculant le rendement transfusionnel plaquettaire (RTP, utilisé en Europe) ou le *Corrected Count Increment* (CCI), à l'aide des formules suivantes :

- RTP (%) = Nombre de plaquettes post-transfusionnel − Nombre de plaquettes prétransfusionnel $\times 10^9$/l × Poids (kg) × 0,075/Nombre de plaquettes transfusées $\times 10^{11}$;
- CCI = Nombre de plaquettes post-transfusionnel − Nombre de plaquettes prétransfusionnel $\times 10^9$/l × Surface corporelle (m^2) × 100/Nombre de plaquettes transfusées $\times 10^{11}$.

La quantité de plaquettes qui recircule après transfusion chez un malade cliniquement stable se situe autour de 50 à 60 % (le reste des plaquettes est séquestré physiologiquement dans la rate). L'inefficacité transfusionnelle est établie lorsque le RTP est inférieur à 20 % (et le CCI à 7) et ce à au moins deux reprises. Le malade est dit « réfractaire » aux transfusions lorsque le rendement transfusionnel est nul (< 5 %). La durée de vie des plaquettes transfusées est de 3 à 6 jours. En pratique, le calcul de ce rendement n'est pas toujours effectué ; l'efficacité de la transfusion est jugée sur la disparition du syndrome hémorragique et le maintien d'un taux de plaquettes supérieur au seuil souhaité au prix d'une à deux transfusions par semaine (voire 3 jours si de petites doses sont utilisées). En fait, l'*end-point* des études évaluant l'efficacité des transfusions devrait être l'apparition d'un syndrome hémorragique grave, mettant en jeu le pronostic vital ou la mort par hémorragie. Il a été en effet démontré que la numération plaquettaire ne constitue pas à elle seule un reflet exact du risque hémorragique, sauf en cas de thrombopénie extrême, inférieure à 5×10^9 par litre, car le risque réel varie en fonction de facteurs surajoutés liés à l'état clinique du patient. Cet *end-point* est cependant difficile à prendre en compte, du fait de la rareté relative de l'événement qui nécessiterait la réalisation d'études incluant un nombre très important de malades, pour obtenir une différence significative. Seules quelques études, portant sur un grand nombre de patients, ont

ainsi pris en compte ce critère pour étudier les avantages ou inconvénients d'une pratique. Des critères objectifs plus fins pour juger de l'efficacité des transfusions de CP et pour piloter un programme transfusionnel sont vivement souhaités de la part de la communauté transfusionnelle et onco-hématologique et des groupes de travail se mettent en place. À noter aussi qu'on questionne la validité des *read-out* les plus pertinents ; les plaquettes, en effet, si elles sont transfusées pour colmater une brèche en cas d'hémorragie, n'ont pas réellement vocation à recirculer !

Choix des produits

L'autosuffisance de chaque région de France pour la production de concentrés plaquettaires est indispensable du fait de la péremption courte de ce produit labile. La problématique du choix du produit (MCPS *versus* CPA) peut être dirigée par la logistique de la production, si un ETS prélève insuffisamment de sang total pour générer des MCPS en quantité substituable aux CPA.

Seuls les CPA sont utilisables pour les malades immunisés vis-à-vis des antigènes HLA.

Les avantages des CPA par rapport aux MCPS, hors cette indication, ne sont plus réellement d'actualité, les avantages et inconvénients — modestes — de chaque type se contrebalançant :

- le risque d'exposition à des agents infectieux résiduels est au désavantage des MCPS (en moyenne cinq donneurs) ;
- bien que le risque bactérien soit en théorie plus important avec les MCPS qu'avec les CPA, le risque de transmission relevé par les services d'hémovigilance apparaît équivalent pour les deux produits, mais la morbidité est moindre avec les MCPS ;
- aucun cas de transmission d'agent parasitaire n'a été rapporté comme lié à des transfusions de plaquettes au cours des dernières années ;
- le risque de TRALI est en revanche plus important avec les CPA qu'avec les MCPS du fait de la quantité de plasma plus importante dans les CPA et du fait que chacun des plasmas est dilué lors du poolage des MCPS ; cela étant, la politique de suspension de conservation d'une part, de réduction des dons féminins d'autre part ont amoindri cette différence, qui ne peut plus être calculée statistiquement ;
- en cas d'incompatibilité RH:1, le risque d'allo-immunisation apparaît supérieur avec les MCPS car le nombre d'hématies résiduelles y est supérieur ;
- à l'époque où on réévalue le risque « donneurs », la balance risque (pour le donneur)/bénéfice (pour le patient) plaiderait plutôt en faveur du MCPS, de même que le facteur éthique de péremption du produit ou sa disqualification en cas de suspicion de contamination bactérienne (ou de faux positif).

Ainsi, les avantages du CPA *versus* le MCPS sont ténus et — en France du moins — c'est essentiellement le stock disponible qui guidera le choix. Des données récentes semblent confirmer que l'efficacité de délivrance du CP, qu'il s'agisse d'un MCPS ou d'un CPA, pourrait être davantage pertinent que la nature de ce CP : plus jeune sera le CP, moins à risque il sera d'entraîner une manifestation inflammatoire.

Immunologie de la transfusion et des règles de sélection des concentrés plaquettaires

La plaquette exprime à sa surface des alloantigènes, certains étant communs avec d'autres cellules de l'organisme (hématies, leucocytes), d'autres étant spécifiquement plaquettaires. Les antigènes communs sont ceux des systèmes ABO et HLA (seuls les antigènes de classe I sont exprimés par les plaquettes) ; les antigènes spécifiques sont ceux des systèmes HPA. Ces antigènes peuvent être des cibles potentielles pour des anticorps présents chez les patients transfusés, lesquels peuvent alors induire une diminution voire, plus souvent, une inefficacité totale des transfusions. La sélection des concentrés plaquettaires vise à optimiser le rendement post-transfusionnel et l'efficacité hémostatique de ceux-là.

Inefficacité transfusionnelle et état réfractaire

À dose thérapeutique adéquate, un mauvais rendement plaquettaire post-transfusionnel apprécié par le RTP ou le CCI peut être consécutif à une cause immunologique ou non immunologique liée au malade (splénomégalie, infection, fièvre, coagulopathie de consommation, maladie veino-occlusive) ou à une thérapeutique intercurrente (vancomycine, amphotéricine B, héparine, ciprofloxacine). La qualité de produit (qui peut être diminuée du fait de transformations) influence aussi le rendement. Ainsi, la fraîcheur du concentré plaquettaire intervient dans le rendement post-transfusionnel, les concentrés plaquettaires conservés plus de 48 heures après le don donnant un rendement moins bon. Les causes immunes, bien qu'étant les moins fréquentes (20 à 30 % des cas), sont néanmoins déterminantes pour expliquer une inefficacité transfusionnelle. L'état réfractaire aux transfusions se définit, biologiquement, comme l'absence totale de recirculation des plaquettes transfusées. Il est, dans la majorité des cas, dû à une cause immunologique (anti-HLA et/ou anti-HPA) ou, plus rarement, à une maladie veino-occlusive au décours d'une greffe de CSH. Son diagnostic repose sur la constatation d'une inefficacité lors de deux transfusions successives, dont au moins une est réalisée avec des concentrés plaquettaires ABO compatibles, conservés moins de 72 heures et contenant une dose suffisante. Il est alors nécessaire de rechercher des anticorps anti-HLA et, dans un second temps, des

anticorps anti-HPA, et de déterminer, si cela est possible, les phénotypes HLA/HPA du patient.

Rôle de l'immunisation anti-ABO

La plaquette sanguine exprime à sa surface les antigènes A et B — et, à un moindre degré, les antigènes des systèmes Lewis, Ii et P — mais n'exprime pas les antigènes des autres groupes sanguins érythrocytaires. La sélection de concentrés plaquettaires est classiquement faite en suivant les règles de compatibilité érythrocytaire et la transfusion de concentrés plaquettaires est habituellement réalisée en isogroupe ABO. En l'absence de concentré plaquettaire isogroupe, l'alternative est d'utiliser des CP ABO antigéno-compatibles (par exemple, concentré plaquettaire O pour un patient A), mais leur disponibilité peut être rapidement limitée. Dans ces cas, la compatibilité ABO n'est plus respectée et, bien que cette pratique aboutisse en règle générale à des transfusions plaquettaires cliniquement et biologiquement efficaces, un mauvais rendement post-transfusionnel peut rarement être constaté.

Dans ces cas de transfusions ABO antigéno-incompatibles (par exemple, transfusion d'un concentré plaquettaire de groupe A à un patient O), la diminution du rendement plaquettaire post-transfusionnel est consécutive à la destruction des plaquettes transfusées par les anticorps anti-A et/ou d'anti-B du malade. L'effet n'est cependant pas constant pour plusieurs raisons : le titre des anticorps anti-A et/ou d'anti-B du patient transfusé est variable, la densité des antigènes A et/ou B sur les plaquettes est variable, hétérogène et moindre que sur les globules rouges. La constatation d'un état réfractaire est, dans ces situations, exceptionnelle.

Les études expérimentales et cliniques semblent aussi attester de l'efficacité très nettement amoindrie de la transfusion de concentrés plaquettaires issus d'un donneur de groupe A1 à un malade O : le rendement peut être de 30 % de celui observé avec une transfusion isogroupe. *A contrario*, la transfusion de plaquettes issues de donneurs de groupe A2 (environ 20 % des individus de groupe A) et, à un moindre degré, de donneurs de groupe B chez des malades O se traduit en général par une efficacité comparable à celle des transfusions isogroupes.

Rôle de l'immunisation anti-HLA

La sélection de concentrés plaquettaires dans le système HLA n'est pas pratiquée de façon systématique, car l'immunisation anti-HLA *de novo* est pratiquement inexistante depuis l'utilisation systématique de produits sanguins labiles déleucocytés. La compatibilité HLA n'est recherchée pour la transfusion de concentrés plaquettaires que dans le cas où une allo-immunisation dirigée contre des antigènes HLA de classe I est mise en évidence chez le receveur. Cette allo-immunisation est la conséquence de

transfusions antérieures de produits non déleucocytés, de grossesse ou plus rarement de transplantation.

L'expression des antigènes HLA de classe I est variable selon les spécificités antigéniques : les antigènes HLA-C, par exemple, sont faiblement exprimés, ainsi que les antigènes B44 ou B45. Cette différence d'expression, qui peut conditionner le rendement plaquettaire post-transfusionnel en cas d'immunisation, peut être prise en compte lors de la recherche de concentrés plaquettaires HLA-compatibles. Chez certains patients poly-immunisés vis-à-vis de plusieurs spécificités antigéniques et/ou de spécificités fréquentes — ce qui se traduit au laboratoire par une réactivité sur plus de 80 % des cellules du panel testé —, la sélection de concentrés plaquettaires compatibles peut être difficile, voire impossible.

Le principe de sélection de concentrés plaquettaires HLA-compatibles repose sur la sélection d'un CPA provenant d'un donneur phénotypiquement le plus proche du malade. Le choix idéal est celui d'un donneur complètement HLA identique au malade. Malheureusement, une telle sélection n'est que rarement possible. Ainsi, il a été estimé qu'un registre de 18 000 à 25 000 donneurs phénotypés serait nécessaire pour espérer trouver cinq CPA HLA phéno-compatibles pour un malade et assurer le support transfusionnel de 80 % des patients d'une population caucasienne.

La sélection des concentrés plaquettaires s'appuie donc, en pratique, sur l'identification des anticorps anti-HLA. Le principe est de trouver des donneurs dépourvus des antigènes HLA cibles de l'anticorps. Cette sélection est suffisante pour assurer le support transfusionnel de patients immunisés contre des antigènes bien identifiés (allo-immunisation anti-A2, par exemple). Dans le cas contraire, cette sélection de CPA compatibles est associée à une épreuve directe de compatibilité sérique faite au laboratoire. Ce test de compatibilité ne permet pas, malheureusement, de prédire dans tous les cas un rendement transfusionnel satisfaisant, du fait du manque de sensibilité de la technique, ce qui impose de rechercher les CPA les plus « HLA approchants » du phénotype du malade. Dans les cas complexes, l'aide d'algorithme est précieuse, permettant, par comparaison des épitopes immunogènes, de sélectionner des CPA potentiellement compatibles.

Dans le cas où la recherche n'est pas couronnée de succès, dans un but curatif et pour faire face à une situation d'urgence vitale, des transfusions incompatibles peuvent être proposées. Le but est d'obtenir un effet hémostatique en « submergeant » (provisoirement) l'anticorps anti-HLA. Le choix du produit sanguin est alors de préférence le MCPS, car il provient de donneurs différents. La transfusion doit alors être massive et répétée à intervalles réguliers (toutes les 6 à 12 heures). Aucun argument formel ne permet cependant, à ce jour, de valider cette pratique. Cette option peut s'accompagner d'autres pratiques qui, elles non plus, ne sont pas validées formellement, comme l'injection de facteur VII activé, la réalisation

de plasmaphérèses pour épurer l'anticorps ou l'injection de fortes doses d'immunoglobulines polyvalentes.

Rôle de l'immunisation anti-HPA

Les antigènes du système HPA d'intérêt transfusionnel sont principalement exprimés sur la GPIIb/IIIa (qui porte les spécificités HPA-1 et HPA-3), la GPIb/IX/V et la GPIa (HPA-5). La découverte d'une allo-immunisation plaquettaire est rare et s'accompagne le plus souvent d'une allo-immunisation anti-HLA. Il est cependant vraisemblable que cette allo-immunisation soit sous-estimée et qu'il existe des formes atténuées et non diagnostiquées. Les spécificités le plus souvent en cause sont les anti-HPA-1a et anti-HPA-5b. La présence de ces anticorps entraîne une inefficacité transfusionnelle totale en cas de transfusions incompatibles. Celles-ci font en outre courir un risque de purpura post-transfusionnel, dont le diagnostic est difficile chez des malades présentant une thrombopénie liée à la maladie causale.

Situations particulières

Transfusion de concentrés plaquettaires dans l'allogreffe de cellules souches hématopoïétiques (CSH)

La prise en charge des sujets allogreffés en CSH répond, d'une part, au statut et aux caractéristiques immunologiques du patient (groupe sanguin ABO RH:1, immunisation HLA et/ou HPA) avant la greffe, d'autre part, à celles du greffon. Les recommandations générales applicables aux produits sanguins cellulaires transfusés à ces receveurs sont les suivantes :

- irradiation systématique des produits : cette transformation vise à prévenir la survenue d'une GVH. L'irradiation doit être appliquée pour toute transfusion réalisée dans les 15 jours avant la greffe et maintenue à vie pour toute transfusion ultérieure. La mention de l'irradiation doit être protocolée (dossier transfusionnel du malade dans le fichier receveur) et inscrite sur le document transfusionnel remis au patient ;
- utilisation de produits sanguins « CMV-négatifs » pour les patients CMV-négatifs greffés avec un greffon provenant d'un donneur « CMV-négatif ».

(À noter : l'utilisation de CP ayant bénéficié d'un traitement par réduction de pathogène permet de s'affranchir de ces deux règles et facilite la gestion des stocks disponibles.)

Respect du groupe sanguin ABO-RH (D)

En fonction du couple donneur/receveur, les critères de respect de la compatibilité ABO doivent être adaptés pour éviter une hémolyse des hématies (du donneur ou du receveur) pouvant être induite par l'apport d'anticorps contenus dans le plasma des concentrés plaquettaires et pour assurer une efficacité optimale des transfusions (tableau 5.5) ; l'utilisation de solutés de

Tableau 5.5. Critères de choix des concentrés plaquettaires.

		Groupe du donneur			
		O	A	B	AB
Groupe de receveur	O	O AB AB	O^{NI} AB AB	O^{NI} BA AB	O^{NI} $A^{NI}B^{NI}AB$
	A	A $O^{NI}B^{NI}AB$	A $O^{NI}B^{NI}AB$	A^{NI} $O^{NI}B^{NI}AB$	A^{NI} $O^{NI}B^{NI}AB$
	B	B $O^{NI}A^{NI}AB$	B^{NI} $O^{NI}A^{NI}AB$	B $O^{NI}A^{NI}AB$	B^{NI} $O^{NI}ABA^{NI}$
	AB	AB $A^{NI}B^{NI}O^{NI}$	AB $A^{NI}B^{NI}O^{NI}$	AB $B^{NI}A^{NI}O^{NI}$	AB $A^{NI}B^{NI}O^{NI}$

+ visuel dans les instructions icono.
NI, non isogroupe.

conservation permet néanmoins de limiter le risque en diluant l'anticorps, mais n'affranchit pas de tendre vers le plus de compatibilité possible et surtout d'éviter les anticorps d'iso-immunisation. Ces critères de choix sont à réévaluer après la prise de greffe et l'apparition des hématies du greffon. La prévention de l'allo-immunisation RH:1 est habituelle en cas de transfusion de concentrés plaquettaires provenant de donneurs RH:1 (D positif) à un receveur RH:–1 (D négatif). Cette prévention repose sur une immunoprophylaxie réalisée au décours de la transfusion de plaquettes (une dose de 100 µg d'IgIV, dont la demi-vie est de 21 jours, permet d'opsoniser 5 ml de globules rouges).

Respect d'une allo-immunisation HLA et ou HPA

Dans le cas d'une allo-immunisation HLA et/ou HPA préexistante chez le receveur, l'anticorps identifié doit être respecté lors de la transfusion des concentrés plaquettaires jusqu'à sa disparition du fait du *switch* vers le système immunitaire du receveur (J+50 à J+150 après la greffe). Dans le cas d'une allo-immunisation du donneur, la transfusion de concentrés plaquettaires doit en tenir compte à partir de J+10, date habituelle de son apparition chez le receveur.

Document transfusionnel

Pour éviter toute erreur lors de la prise en charge transfusionnelle des patients allogreffés en CSH, un document transfusionnel, dit de « consignes transfusionnelles », doit se substituer à l'ensemble des documents édités de groupage sanguin réalisés avant la greffe (figure 5.1). Ce document reprend les protocoles transfusionnels, en particulier l'obligation d'irradier les produits sanguins cellulaires à transfuser, et les caractéristiques immunologiques (en particulier ABO) applicables à l'utilisation de ceux-là.

CONSIGNES TRANSFUSIONNELLES POST-ALLOGREFFE DE CSH

Consignes susceptibles de modifications en fonction de l'évolution des examens IH

Nom de naissance	**RECEVEUR**	Nom marital : **.**	N° dossier EFS
Prénom :	**TEST**	Sexe : **M**	**0123456789**
Né(e) le :	**18/07/56**		

Transfusion en PSL IRRADIES **CMV négatif**

Concentrés de Globules Rouges	**O non iso**	**D- C- E-** RH: -1, -2, -3,	**K-** KEL :-1
Concentrés de Plaquettes	**O non iso, A*, B*, AB***		**Ne pas injecter d'Ig Anti-D**
Plasma	**A ou AB**		

(*) : Pour ces PSL, il est préférable de vérifier, au préalable, l'absence ou le faible taux d'anticorps immums ABO chez le receveur

Service d'hématologie clinique	Caractéristiques de la greffe de Moelle		réalisée le : 18/07/06	
	Receveur (pré-greffe)	Donneur 1	Donneur 2	Visa 1
Hôpital Saint-Antoine 184 rue du Fg St Antoine 75012 PARIS Tél : 01 43 44 55 01	O D+ C+ E+ c+ e+ K+ RH : 1, 2, 3, 4, 5 KEL : 1	A D- C- E- c+ e+ K- RH : -1, -2, -3, 4, 5 KEL : -1	RH : KEL :	Visa 2 Document réalisé le 18/07/06

EFS ILE-DE-FRANCE - Site Saint-Antoine, 53, boulevard Diderot - 75012 PARIS - Tél : 01 53 02 91 00

Figure 5.1. Exemple de carte de consignes transfusionnelles.

Transfusions de produits plaquettaires en chirurgie et dans les transfusions massives

Les hémorragies massives sont définies par le remplacement d'une masse sanguine en moins de 24 heures ou d'une demi-masse en moins de 3 heures ou d'un saignement avec un débit de plus de 150 ml/min. L'objectif de la prise en charge transfusionnelle vise à assurer une oxygénation et une perfusion tissulaires, et à maintenir ou à restaurer la fonction hémostatique. La transfusion de concentrés plaquettaires ne pourra donc être isolée de la transfusion des autres PSL que sont les plasmas frais congelés (PFC) pour l'apport de facteurs de coagulation, et les CGR pour le maintien d'un hématocrite supérieur à 30 %. On rappelle par ailleurs que la transfusion de CGR a un pouvoir hémostatique faible *per se*, lié à la pression qu'il exerce sur les plaquettes repoussées en périphérie, vers les brèches vasculaires. Ce n'est qu'un effet subsidiaire.

Les recommandations sur les indications de la transfusion de concentrés plaquettaires publiées par l'Afssaps en 2003 (pas encore révisées), en accord avec la plupart des *guidelines* internationales, ne préconisent l'apport prophylactique de plaquettes qu'au-delà d'une perte de deux masses sanguines en moins de 24 heures, et la transfusion des concentrés plaquettaires qu'en cas de saignement « anormal », défini comme un saignement ne répondant ni à la compression ni à l'électrocoagulation.

Les seuils recherchés sont un taux de plaquettes supérieur à 50×10^9 par litre (ou à 100×10^9 par litre en cas de traumatisme crânien ou d'atteinte neurologique). L'appréciation clinique du saignement est souvent difficile à évaluer. La documentation du besoin en concentrés plaquettaires par des arguments biologiques est nécessaire pour un suivi optimal mais, dans la pratique, il n'est pas toujours possible d'attendre une numération plaquettaire pour guider la prescription chez ces patients fragiles et instables.

La stratégie transfusionnelle au cours des hémorragies massives est actuellement réévaluée. De nombreuses études rétrospectives portant sur la prise charge des polytraumatisés militaires, puis civils, et étendues ensuite à des modèles chirurgicaux d'hémorragies massives, ont évalué le ratio PFC/CGR transfusés ou PFC/concentrés plaquettaires/CGR transfusés efficace pour la prise en charge de ces situations hémorragiques. Il semble que des ratios PFC/CGR transfusés de 1/1,5 voire de 1/1 améliorent la survie des patients par comparaison aux règles classiques de prise en charge (ratio 1/5 à 1/8). Des résultats similaires, moins nombreux, semblent aussi accorder un rôle essentiel à la transfusion moins restrictive de plaquettes : certains centres ont ainsi proposé des « modèles de transfusion » associant un à deux CP pour cinq CGR et cinq PFC. Même si ces études sont l'objet de controverses méthodologiques, la survie des patients inclus dans des protocoles où l'administration du PFC et de concentrés plaquettaires est précoce semble améliorée.

La chirurgie cardiovasculaire est une situation particulière, car elle nécessite le plus souvent une circulation extracorporelle (CEC), laquelle impacte directement le risque hémorragique, associant une thrombopénie et une thrombopathie dues à la fois à une hémodilution, à une consommation de plaquettes (malgré une biocompatibilité des matériaux utilisés) et à un saignement majoré par l'hypothermie. Si le recours à la transfusion de concentrés plaquettaires n'est pas systématique, celle-là est très fréquente en cas de CEC longue (au-delà de 3 heures) et/ou d'hypothermie profonde (18°C).

La transfusion de plaquettes en chirurgie peut enfin être aussi nécessaire lors d'interventions réalisées chez des patients sous traitement antiagrégant (aspirine et/ou clopidogrel), car ces patients présentent un risque hémorragique important. Chaque fois que possible, l'arrêt des médicaments, une semaine avant l'intervention, est recommandé, mais il expose à un risque de thrombose ou de re-thrombose, en particulier lors de la pose de stents. Dans l'attente de recommandations, le bénéfice/risque de la suspension du traitement doit être mesuré au cas par cas ; de nouveaux antiagrégants ou de nouvelles classes d'antiagrégants laissent entrevoir des améliorations significatives. La survenue d'une hémorragie inhabituelle chez ces patients pendant l'acte chirurgical rend la prescription de concentrés plaquettaires indispensable. En revanche, l'intérêt de la transfusion prophylactique avant le geste chirurgical n'est pas démontré et n'est pas recommandé.

La stratégie optimale reste donc à établir par le biais d'études prospectives. Une approche récente d'adaptation de la dose thérapeutique aux besoins des malades repose sur la réintroduction de tests d'évaluation de l'hémostase globale (thromboélastogramme), qui permettraient de poser l'indication de la transfusion de concentrés plaquettaires et/ou de PFC en cas d'altération du test.

Transfusion durant la période néonatale

La transfusion de concentrés plaquettaires en néonatalogie obéit à des règles particulières qui prennent en compte non seulement les caractéristiques physiologiques et immunologiques de l'enfant, mais aussi une éventuelle immunisation de la mère. Le risque majeur des thrombopénies sévères est l'hémorragie intracérébrale. Le risque hémorragique est majoré par la sévérité de la thrombopénie ($< 20 \times 10^9$ par litre), l'âge postnatal (< 24 heures) et l'étiologie de la thrombopénie (origine allo-immune), voire l'antigène (tous les antigènes HPA ne semblent pas associés aux mêmes risques). Le concentré plaquettaire de choix est le CPA homologue compatible en HPA (par exemple, HPA1b/1b si l'immunisation est — comme c'est le plus fréquemment le cas — dirigée contre HPA1a) ; celui-là peut être fractionné en sous-unités dont le volume plasmatique résiduel peut être réduit pour l'adapter au volume sanguin de l'enfant ; exceptionnellement, on peut avoir recours à un CPA congelé (groupe rare et anticorps agressif). On ne privilégie plus, sauf exception, le CPA prélevé en post-accouchement chez la mère — ce CPA doit être irradié (risque de GVH) et déplasmatisé (risque lié à l'apport passif d'anticorps maternels). L'usage de MCPS joint aux IVIg et à une corticothérapie permet cependant de résoudre la plupart des situations si on doit attendre un CPA phénotypé. La dose thérapeutique, plus importante que chez l'adulte, se fait sur la base de $0{,}2 \times 10^{11}$/kg de poids corporel. Ces notions sont encore très discutées selon les équipes.

Thrombopénie non immune

La transfusion de concentrés plaquettaires est indiquée dans le cas d'une numération :

- inférieure à 20×10^9 par litre en situation clinique stable ;
- inférieure à 50×10^9 par litre en cas de gestes invasifs ou de facteurs de risque ;
- inférieure à 100×10^9 par litre en cas de chirurgie majeure (vasculaire, neurochirurgie) ou d'hémorragie intracrânienne récente.

Thrombopénie immune

Les thrombopénies immunes, qui résultent de la destruction des plaquettes de l'enfant par les anticorps maternels (alloanticorps ou, beaucoup plus rarement, autoanticorps), sont les plus fréquentes des thrombopénies sévères néonatales. Le seuil recommandé pour la transfusion de concentrés

plaquettaires est de 30×10^9 par litre, le risque d'hémorragie intracrânienne étant majeur dans cette situation (20 à 30 % des cas). L'anticorps en cause est le plus souvent un anti-HPA-1a ou, à un moindre degré, un anti-HPA-3a.

Transfusion et thrombopénie périphérique

Comme indiqué précédemment, la transfusion de plaquettes n'est, en théorie, pas indiquée chez les malades ayant une thrombopénie périphérique, les plaquettes transfusées étant alors détruites de la même manière que les plaquettes autologues. Ces règles souffrent cependant quelques exceptions :

- les thrombopénies liées à une déplétion au cours, par exemple, d'une hémorragie massive ou d'une circulation extracorporelle peuvent justifier une transfusion lorsqu'elles sont sévères, afin de maintenir l'hémostase primaire le temps que le processus causal cesse ;
- les thrombopénies liées à une coagulation intravasculaire disséminée (CIVD) peuvent, lorsqu'elles sont sévères et associées à un syndrome hémorragique menaçant, justifier la transfusion de plaquettes. Il en va ainsi des CIVD observées au cours des leucémies aiguës à promyélocytes, en attendant que le traitement chimiothérapique soit efficace pour faire cesser le processus.

Dans ces deux cas, le rendement des transfusions, même s'il est très diminué, n'est pas nul et le maintien d'un taux de plaquettes au-dessus d'un certain seuil (le plus souvent 50×10^9 par litre) est possible en répétant les transfusions à un rythme rapproché, et en prescrivant des quantités importantes de plaquettes à chaque acte.

Le problème de la transfusion au cours des purpuras thrombopéniques immunologiques est plus difficile car le rendement transfusionnel y est nul. La transfusion n'est acceptable que lorsqu'il s'agit d'un traitement « de la dernière chance » face à un risque hémorragique avéré ou à une hémorragie révélée. La transfusion n'est donc pas indiquée si l'efficacité d'autres traitements est attendue de manière rapide (le traitement par fortes doses de corticoïdes et d'immunoglobulines peut être efficace en 12 à 24 heures après son injection) ; d'autres traitements comme les anticorps monoclonaux se révèlent efficaces. La transfusion de plaquettes n'est pas non plus indiquée en cas de splénectomie, même lorsque la thrombopénie est extrême ; il est cependant habituel de mettre à disposition, à proximité du bloc opératoire, des concentrés plaquettaires que l'on n'utilise que s'il survient un syndrome hémorragique massif au cours de l'acte chirurgical, situation rarissime.

Hémovigilance

Bien qu'il n'existe pas de particularités, en termes d'hémovigilance, qui différencieraient les concentrés plaquettaires des autres produits sanguins, le pourcentage des événements indésirables receveur (EIR), rapportés au nombre de concentrés plaquettaires transfusés est plus important qu'avec tous les autres produits sanguins. Ainsi, en 2012, si le réseau d'hémovigilance a

enregistré 20 EIR d'imputabilité 1-3 pour 10 000 produits sanguins labiles transfusés, ce chiffre était de 41 pour les CP. Les réactions les plus fréquentes sont les réactions dites allergiques (deux tiers en moyenne) et les réactions fébriles non hémolytiques ; toutes deux — qu'il n'est pas toujours possible de distinguer très clairement — devraient être réduites par l'introduction des solutions additives dans la conservation des CP ; elles semblent moins fréquentes avec des CP plus frais que plus âgés.

Le risque de prolifération bactérienne dans le produit et d'accident infectieux chez le receveur, favorisé par la température de conservation des concentrés plaquettaires, persiste et ce malgré les mesures de prévention (dérivation des premiers millilitres lors du don de sang, déleucocytation). En 2012, en France, sur huit cas d'infection bactérienne confirmés, sept sont survenus après une transfusion de concentrés plaquettaires (cinq CPA et deux MCPS, un grade 4 pour chaque type de produit). L'efficacité du traitement d'inactivation des pathogènes est, dans ce domaine, incontestable et sa généralisation permettrait de résoudre le problème, sans doute mieux que la détection systématique des bactéries dans les CP qui montrent quelques faux négatifs et encore beaucoup de faux positifs.

La survenue d'un TRALI (*Transfusion-Related Acute Lung Injury*) est une complication parfois mortelle, le plus fréquemment associée à la transfusion d'un PFC ou d'un CPA (mais des CGR peuvent en être à l'origine néanmoins). La présence d'anticorps antileucocytaires (anti-HLA, antigranuleux) dans le plasma transfusé est une des causes majeures pour expliquer ce syndrome d'œdème lésionnel pulmonaire aigu. Récemment, des mesures de prévention ont été introduites. Ces mesures ont déjà démontré une diminution significative des déclarations de cas — les cas français devraient bientôt être analysés mais leur diminution semble bien avérée — : introduction de solutions additives (effet de dilution des anticorps) et dépistage systématique des anticorps anti-HLA chez les femmes non nullipares.

La survenue d'une inefficacité transfusionnelle (« état réfractaire ») voire, plus exceptionnellement, celle d'un purpura post-transfusionnel, sont des complications graves qu'il est nécessaire de dépister pour assurer un support transfusionnel et thérapeutique adapté. Les autres complications de la transfusion de concentrés plaquettaires sont plus rares, comme l'apparition d'anticorps antiérythrocytaires liée à la présence résiduelle d'hématies dans le produit (en particulier dans les MCPS) ou la surcharge volémique (volume trop important du concentré plaquettaire ou débit trop rapide).

Produits de substitution

La volonté de développer des substituts plaquettaires est essentiellement due aux contraintes liées aux conditions de conservation des concentrés plaquettaires (durée de conservation autorisée de 5 jours en France et dans de nombreux autres pays, avec risque de multiplication bactérienne) et aux

problèmes d'approvisionnement auxquels il faut faire face en raison de l'expression des besoins. Le produit idéal devrait présenter une efficacité hémostatique sans être thrombogène, avoir une durée d'action suffisamment longue, pouvoir être conservé longtemps dans des conditions simples et être dépourvu d'immunogénicité et de composante inflammatoire. Diverses stratégies ont été développées visant à conserver les plaquettes au froid (afin de diminuer le risque bactérien et de prolonger la durée de conservation) et à congeler les concentrés plaquettaires. Seule la seconde voie a abouti à la production des concentrés plaquettaires ayant une fonction hémostatique partiellement conservée, mais le coût et les difficultés de préparation et de mise à disposition de ces concentrés les font réserver à des situations exceptionnelles.

Une autre voie de recherche a consisté à tenter de préparer des plaquettes ou des membranes plaquettaires lyophilisées. Ces produits ont paru montrer *in vitro* des fonctions hémostatiques, avec cependant une durée d'activité courte. Ce type de préparation semble avoir été abandonné. De même, l'utilisation de microvésicules plaquettaires, de billes ou de nanoparticules sur lesquelles sont greffés du fibrinogène et des séquences peptidiques permettant sa fixation à la GPIIb/IIIa, ou l'utilisation de microcapsules ou de microsphères recouvertes d'albumine sur lesquelles sont immobilisées des molécules procoagulantes, ont été proposées sans qu'apparemment les espoirs suscités par les résultats *in vitro* se soient concrétisés lors des essais cliniques.

Il n'existe donc actuellement aucun produit de substitution aux concentrés plaquettaires et on peut anticiper que de tels produits n'apparaîtront pas dans les prochaines années. Il y actuellement plusieurs projets concurrents de production de plaquettes *in vitro*, mais la capacité de mise en production de routine n'est pas avérée (non plus que le rapport risque/bénéfice) : ces produits pourraient cependant être d'excellents apports d'exception (antigénique en particulier).

Des peptides stimulateurs des récepteurs à la thrombopoïétine (il en existe deux majeurs) ont fait la preuve de leur efficacité dans un certain nombre de situations.

5.4 Transfusion de plasma thérapeutique

Différents types de plasmas thérapeutiques

Les plasmas délivrés en France sont de deux grandes natures : soit sécurisé par une quarantaine de 2 mois, soit viro-atténués. Plusieurs sociétés ont développé des techniques d'inactivation des pathogènes dans le plasma : deux peuvent être délivrés en France, le plasma viro-inactivé par

Tableau 5.6. Activité antimicrobienne.

	PVA-SD	PVA-IA	PVA-BM	PFC-SC
Virus de l'hépatite B	++	+	+	+
Virus de l'hépatite C	++	+	+	+
VIH extracellulaire	+	+	+	+
VIH intracellulaire	+	+	+ (préfiltration)	+
Parvovirus B19	–	±	+	–
Virus de l'hépatite A	–	–	–	–
T. cruzi	+	+	+	+

solvant-détergent (PVA-SD) et le plasma viro-inactivé par l'amotosalen (PVA-IA). Le plasma viro-inactivé par le bleu de méthylène (PVA-BM) n'est plus ni produit ni délivré en France depuis quelques années. L'action des plasmas utilisés en France est synthétisée dans le tableau 5.6.

Quatre caractéristiques particulières s'appliquent au plasma actuellement délivré en France :

- ils sont tous issus de dons en aphérèse ou de plasma issu de sang total ;
- ils sont tous congelés/décongelés (pas de plasma conservé quelques jours à 4°C) ;
- la leucoréduction n'est pas pour une cible $< 10^6$(/l) comme pour les autres PSL (hormis le fait que pour les autres PSL, l'unité est le produit, pas le litre) mais $< 10^4$(/l) .

Le plasma thérapeutique devient par accord international « plasma pour utilisation directe » (*plasma for direct use*). Il s'agit du PSL dont le statut et les spécifications évoluent le plus rapidement actuellement au niveau national et international. Depuis 2014, le PVA-SD a un statut de médicament dérivé du sang.

Les normes de qualité des différents types de plasma ont été revues pour les PFC-VA (facteur VIII : 0,5 et non plus 0,7 UI/ml ; c'est toujours 0,7 UI/ml pour le PFC-Se ; fibrinogène, exigible pour le PFC-IA : 2 g/l, sur > 70 % de la production).

PVA-SD

L'inactivation virale par solvant-détergent a d'abord été employée pour le traitement des médicaments dérivés du sang en 1985, avant d'être utilisée pour le plasma frais congelé. Deux sociétés produisent le PVA-SD : Octapharma® et Kedrion®. Il est préparé à partir d'un pool de plusieurs centaines de dons.

PFC-SC

La sécurisation consiste à réaliser un don à J0 et à conserver 60 jours le plasma issu du don. À J+60n un interrogatoire médical et un contrôle

biologique est à nouveau réalisé. En cas de négativité des tests et de l'examen médical, le plasma prélevé à J0 est libéré pour être délivré aux patients. L'inactivation des pathogènes est réalisée après une congélation-décongélation, en utilisant un solvant Tri-*n*-butyl-phosphate (TNBP) et un détergent (Triton X100®). Cette inactivation virale est considérée comme très efficace sur les virus enveloppés potentiellement présents dans le plasma, notamment les virus VIH-1/2, HTLV-I/II, virus de l'hépatite B et C, et le cytomégalovirus (CMV). Elle est sans action sur les virus non enveloppés. Le mélange de plasmas assure la présence, dans le produit, d'anticorps qui neutralisent des virus comme le VHA. Le PVA-SD est inefficace spécifiquement sur le VHE mais la question des anticorps neutralisants n'est pas encore tranchée. En plus de cette action neutralisante des anticorps, le risque de transmission du parvovirus B19 et du VHE est prévenu par la recherche de l'acide nucléique viral dans chaque plasma entrant dans la composition d'un pool, puis sur chaque pool.

Le PVA-SD sera délivré par l'EFS et bénéficiera d'un double circuit de vigilance : pharmacovigilance et hémovigilance.

PVA-BM (technique Theraflex®)

Le bleu de méthylène est connu pour sa propriété à dégrader, de manière photochimique, les acides nucléiques. Il présente une affinité pour les acides nucléiques. Après absorption d'énergie lumineuse, la production des formes réactives d'oxygène entraîne une dénaturation irréversible des acides nucléiques viraux. Le plasma est mis en contact avec le bleu de méthylène puis soumis à une illumination en lumière visible. Le bleu de méthylène est ensuite éliminé par une filtration spécifique (figure 5.2).

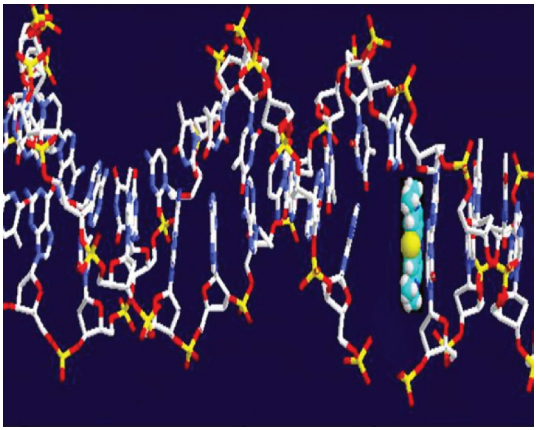


Figure 5.2. Mécanisme d'action du processus de viro-inactivation par le bleu de méthylène sur les acides nucléiques.

Ce traitement est efficace sur les virus enveloppés potentiellement présents dans le plasma, notamment vis-à-vis du VIH-1/2, de l'HTLV-I/II, des virus de l'hépatite B et C, des herpèsvirus (dont le CMV) et le *West Nile Virus*. L'action combinée de la filtration et du traitement au bleu de méthylène est efficace sur un virus intracellulaire comme le VIH. Sur les virus non enveloppés, l'action est variable, d'une inefficacité totale comme sur le VHA, ou efficace avec une réduction virale de plus de 4 log ou plus à l'encontre du parvovirus B19. En cas de pic de virémie équivalent à 10^7/ml, la question de son efficacité totale se pose. Enfin, le traitement par le bleu de méthylène est efficace sur *Trypanosoma cruzi*, agent de la maladie de Chagas.

Ce plasma a été retiré de la liste des PSL en 2012 pour deux raisons :

- des événements de nature allergique jugés trop fréquents par rapport aux autres types de plasma ;
- des taux de fibrinogène très variables.

PVA-IA (technique Intercept®)

L'amotosalen est un psoralène synthétique créé pour inactiver les pathogènes dans les produits sanguins. Les psoralènes sont des composés hétérocycliques communs à de nombreuses plantes. Avec l'addition de chaînes d'acides aminés, le composé devient hydrophile et accroît son affinité pour les acides nucléiques. Parmi les centaines de psoralènes, l'amotosalen (psoralène S-59) a été choisi pour son activité antimicrobienne et son faible impact sur les produits sanguins.

Les psoralènes s'intercalent entre les acides nucléiques et, après exposition aux UVA, forment des liaisons stables entre les chaînes d'acides nucléiques. Le plasma est mis en contact avec le psoralène S-59 puis soumis à une illumination UVA. Le psoralène résiduel est éliminé par filtration spécifique (figure 5.3). Le traitement par l'amotosalen est efficace sur les

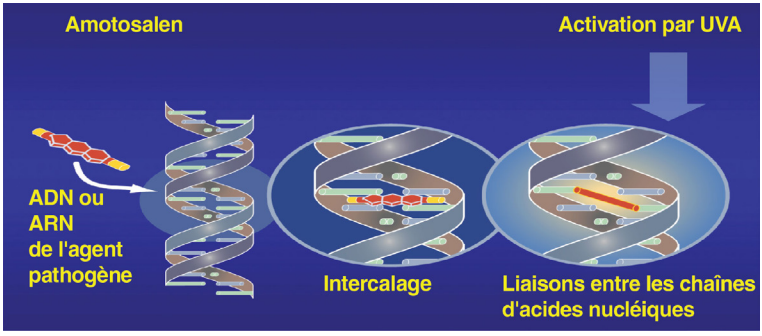


Figure 5.3. Mécanisme d'action du processus de viro-inactivation par l'amotosalen sur les acides nucléiques.
(Source : Cerus Corporation.)

virus potentiellement présents dans le plasma (VIH-1/2, HTLV-I/II, virus des hépatites B et C, herpèsvirus, dont le CMV, *West Nile Virus*). Sur les virus non enveloppés, l'action est variable, allant d'une inefficacité totale comme sur le VHA et probablement le VHE, ou partielle comme sur le parvovirus B19. Le traitement est efficace contre *Plasmodium falciparum*, *Trypanosoma cruzi* et *Babesia microti*.

Plasma lyophilisé PLYO®

Un autre type de plasma est produit et distribué sur le territoire français et sur les champs d'opération militaire mais il est réservé au CTSA. Ce plasma est un pool qui permet de diluer les anticorps anti-GR ; il est inactivé par l'amotosalen et il est lyophilisé, ce qui le rend disponible quasi immédiatement, après réhydratation ; une norme relative à son contenu en fibrinogène lui est également appliquée (≥ 2 g/l).

Caractéristiques des plasmas thérapeutiques et modalités d'utilisation

Les plasmas thérapeutiques délivrés en France respectent des caractéristiques décrites dans le tableau 5.7. Ils sont conservés à l'état congelé et délivrés à l'état liquide après décongélation. Le produit doit être utilisé immédiatement, au plus tard 6 heures après la décongélation.

La prévention du *Transfusion-Related Acute Lung Injury* (TRALI), pour le PFC-Se et le PVA-IA, est assurée par une politique de prélèvement cantonnée aux hommes et aux femmes nullipares ou testées pour l'absence d'anticorps anti-HLA. Le mode d'élaboration du PVA-SD, produit poolé et issu d'un mélange homogène de plasmas issus d'hommes et de femmes, bénéficie d'un dépistage biologique global des anticorps anti-HLA.

Le plasma contient des anticorps du système ABO et la compatibilité pour ce système doit être respectée (figure 5.4). Bien que les plasmas thérapeutiques de type PVA-IA et PFC-Se puissent contenir de petites quantités de globules rouges, l'immunisation secondaire à la transfusion de plasma RH:1 à des patients RH:–1 est improbable, car le stroma de globules rouges est moins immunogène que des globules rouges intacts. Aucune preuve de l'utilité d'une prévention de l'allo-immunisation par immunoglobulines anti-D ne peut être apportée.

Les processus de viro-atténuation ont pour conséquence une dégradation plus ou moins importante de certaines protéines de l'hémostase, révélée par les tests biologiques classiques. Les principales protéines altérées sont,

Tableau 5.7. Caractéristiques des plasmas thérapeutiques.

	PVA-SD	PVA-BM	PVA-IA	PFC-SC
Origine	Issu d'un mélange d'une centaine de dons de même groupe ABO	Aphérèse unitaire	Aphérèse unitaire ou plasma issu de sang total	Aphérèse unitaire ou plasma issu de sang total
Prévention du TRALI	Mélange homogène de plasmas issus de donneurs hommes ou femmes Dépistage des anticorps anti-HLA	Don issu d'hommes, de femmes nullipares ou de femmes multipares sans anticorps anti-HLA	Don issu d'hommes, de femmes nullipares ou de femmes multipares sans anticorps anti-HLA	Don issu d'hommes, de femmes nullipares ou de femmes multipares sans anticorps anti-HLA
Congélation après prélèvement	6 heures - 24 heures	12 heures	18 heures	24 heures
Volume unitaire	200 ml	200-300 ml	200-650 ml	200-650 ml
Fc VIII	> 0,5 UI/ml	> 0,5 UI/ml	> 0,5 UI/ml	> 0,7 UI/ml
Concentration résiduelle en viro-atténuant	–	< 30 mg/l	< 2 mM	–
Température de conservation	< – 25 °C	< – 25 °C	< – 25 °C	< – 25 °C
Durée maximale de conservation	1 an	1 an	1 an	1 an

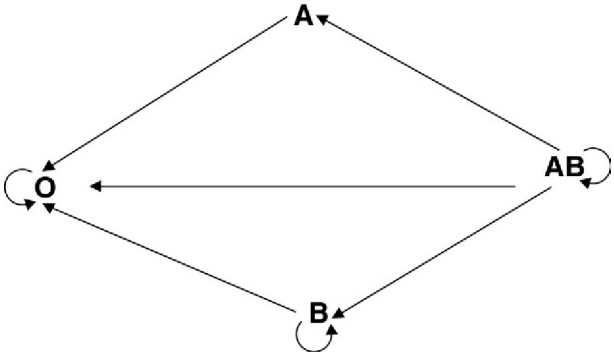


Figure 5.4. Règles de compatibilité pour la transfusion de plasma.

pour le PVA-SD, les facteurs VIII, XI et l'alpha-2-antiplasmine. En France, les plasmas de groupe O sont concentrés par ultrafiltration pour répondre à une norme en facteur VIII supérieure à 0,5 UI/ml, car les donneurs ayant ce groupe ont une concentration plasmatique en ce facteur de coagulation sensiblement plus faible que les autres. Le traitement par le bleu de méthylène entraîne principalement une diminution des facteurs V, VIII, XI et du fibrinogène, tandis que le traitement par amotosalen est responsable d'une diminution du facteur VIII et du fibrinogène. Même si le processus de viro-inactivation altère certaines protéines de l'hémostase, les produits viro-inactivés délivrés en France respectent les caractéristiques réglementaires applicables au plasma frais congelé (PFC) sécurisé. De plus, la compétence hémostatique des plasmas PVA-SD, PVA-BM, PVA-IA, telle qu'elle est évaluée par la thrombinographie, s'avère préservée. Plusieurs groupes de travail nationaux et internationaux réévaluent les facteurs attendus pour leur efficacité thérapeutique et les distinguent des protéines cibles destinées à juger de la qualité de la congélation-décongélation du produit. La décongélation des PFC est également un sujet examiné attentivement, pour réévaluer les procédés traditionnels et évaluer les nouveaux procédés (micro-ondes, par exemple).

Indications du plasma thérapeutique

L'arrêté du 3 décembre 1991, qui stipulait que l'utilisation de PFC à des fins thérapeutiques est strictement réservée à des situations qui l'exigent de façon indiscutable, a été abrogé en juillet 2011 par un autre arrêté. On peut les rappeler par commodité, car ces indications demeurent réelles :

- coagulopathies graves de consommation avec effondrement de tous les facteurs de coagulation ;
- hémorragies aiguës avec déficit global des facteurs de coagulation ;
- déficits complexes rares en facteur de coagulation, lorsque les fractions coagulantes spécifiques ne sont pas disponibles.

À ces indications, les recommandations de l'Afssaps avaient ajouté en 2002 le purpura thrombotique thrombocytopénique et le syndrome hémolytique et urémique de l'adulte.

La recommandation en vigueur est à présent détaillée dans le texte publié en juin 2012 par l'ANSM et la HAS, qui édite un document de type réglementaire (bien qu'il ne s'agisse que d'une recommandation), auquel il sera très utile de se référer : http://ansm.sante.fr/var/ansm_site/storage/original/application/0d50cc90b74fa77a16ae653db8972811.pdf, complété d'un document de type pédagogique (argumentaire) : http://ansm.sante.fr/var/ansm_site/storage/original/application/872563885-f6ef900fd735283e334d31e.pdf.

Indications du plasma thérapeutique (ANSM-HAS, 2012)

Indications du plasma thérapeutique en chirurgie, traumatologie et obstétrique

- Altérations mineures ou modérées de l'hémostase préexistantes à la décision de prescription et situations à risque hémorragique : NON, pas d'indication prophylactique.
- Hémorragie d'intensité modérée, peu évolutive ou contrôlée : en fonction de la biologie médicale.
- Choc hémorragique et situations à risque de transfusion massive (> 5 CGR en 3 heures) : accord professionnel.
- Transfusion de plasma en obstétrique : accord professionnel.
- Transfusion de plasma en neurochirurgie : accord professionnel.
- Transfusion de plasma en chirurgie cardiaque : accord professionnel.
- Transfusion de plasma en cas d'insuffisance hépatocellulaire : accord professionnel.
- Transfusion de plasma en cas de brûlures : accord professionnel.

Indications de plasma en médecine

- Syndrome de coagulation intravasculaire disséminée : en fonction de la biologie médicale.
- Déficits en protéines plasmatiques intervenant dans l'hémostase : accord professionnel.
- Microangiopathies thrombotiques : accord professionnel.
- Anomalies de l'hémostase induites par les échanges plasmatiques (EP) utilisant des colloïdes : accord professionnel.
- Œdème angioneurotique héréditaire : NON.

Indications de plasma en néonatalogie et pédiatrie

- Indication chez l'enfant et le nouveau-né, par pathologies similaires aux pathologies de l'adulte.
- Indications spécifiques au nouveau-né.
- Non-indications chez le nouveau-né et l'enfant, comme le SHU typique post-diarrhéique STEC$^+$, en première intention.
- Non-indications spécifiques au nouveau-né :
  - infections néonatales en l'absence de CIVD ;
  - hypovolémie en l'absence de syndrome hémorragique ou de trouble de l'hémostase ;
  - prévention des hémorragies intraventriculaires de l'enfant prématuré en l'absence de coagulopathie ;
  - nouveau-né sain avant acte chirurgical.

Antidotes au surdosage en antivitamine K (HAS, 2008)

Pas en première intention.

Indications du plasma autologue

Accord professionnel.

Les évidences scientifiques d'utilisation du PFC sont faibles. Dans une revue systématique d'essais évaluant l'efficacité du PFC, la seule indication prouvée par des études cliniques randomisées est le purpura thrombotique thrombocytopénique. Dans les autres indications, l'évidence de l'efficacité du PFC est limitée à des études non randomisées ou à des opinions d'experts. Il en va de même pour la plupart des études utilisant tel ou tel autre type de plasma, par pathologie ou groupe de pathologie.

En pratique, on peut retenir les indications ci-après.

Hémorragies aiguës et transfusion massive

L'hémorragie aiguë est définie arbitrairement comme la perte d'un volume sanguin total sur 24 heures ou la perte de 50 % d'un volume sanguin total en moins de 3 heures ou une perte sanguine de plus de 150 ml par minute. Classiquement, le traitement d'une hémorragie massive inclut le contrôle rapide du saignement, le remplissage intravasculaire par des cristalloïdes, la transfusion de concentrés érythrocytaires et, secondairement, la transfusion de plasma, à la dose de 10 à 15 ml/kg, associé à des plaquettes et du fibrinogène. La précocité et la sévérité des coagulopathies associées aux transfusions massives dépendent de l'origine de l'hémorragie, selon qu'elle résulte d'un traumatisme ou d'une chirurgie sélective. En cas de traumatisme, la lésion tissulaire est incontrôlée et la coagulopathie est liée au développement d'une coagulation intravasculaire disséminée (CIVD). Le monitoring de l'hémostase est retardé, alors que la coagulopathie est installée. En cas de chirurgie, la situation est sous contrôle et la coagulopathie est principalement liée à la dilution des facteurs de coagulation.

La prise en charge de l'hémorragie aiguë tend toutefois à changer depuis quelques années. Le traitement utilise le plasma en première intention, un usage limité des cristalloïdes, un ratio plasma/concentré érythrocytaire de 1. Depuis 2007, de nombreuses études rétrospectives du traitement des hémorragies traumatiques ont étudié le meilleur ratio plasma/concentré érythrocytaire : elles montrent une association significative entre un ratio élevé plasma/concentré érythrocytaire et une morbidité basse. Aucune étude prospective randomisée n'existe à ce jour.

Coagulation intravasculaire disséminée

Il est très difficile de définir une thérapeutique standard pour la prise en charge d'une CIVD due à l'une ou l'autre des causes sous-jacentes et selon les différentes phases de la CIVD. Le premier traitement à entreprendre est celui de la maladie causale. Cela peut s'avérer, dans certaines conditions, difficile ou impossible. Le plasma fait partie des choix thérapeutiques chez les patients hémorragiques ou requérant une procédure invasive, principalement en obstétrique ou à la suite d'un traumatisme. Il ne doit

jamais être transfusé de plasma sur des altérations biologiques isolées, et ce quelles que soient les perturbations. La dose thérapeutique initiale est de 15 ml/kg, bien qu'une dose de 30 ml/kg produise une correction plus complète des facteurs de l'hémostase.

Insuffisance hépatocellulaire

L'administration de plasma n'est justifiée chez un cirrhotique, ayant des concentrations de facteurs abaissées de façon chronique, que s'il saigne ou si un geste invasif est envisagé. L'altération des facteurs de l'hémostase due à un trouble de la synthèse n'est pas une indication d'une transfusion de plasma, aussi longtemps que le patient est cliniquement stable.

Purpura thrombotique thrombocytopénique

En hématologie, la principale indication du PFC est le purpura thrombotique thrombocytopénique (PTT), sous forme d'échanges plasmatiques pour les formes idiopathiques et de transfusions prophylactiques pour les formes constitutionnelles. La pathogenèse de la microangiopathie consiste en l'accumulation de multimères de facteur Willebrand (vWF) de très haut poids moléculaire (THPM-vWF) dans le plasma. Le principal mécanisme mis en cause est un déficit d'une métalloprotéinase type « *a disintegrin and metalloprotease with thrombospondin repeats*» (ADAMTS13), responsable du clivage des TPHM-vWF. À la phase aiguë, le plasma apporte l'ADAMTS13 déficitaire. L'efficacité des échanges plasmatiques est démontrée par les taux de rémission et de mortalité par rapport à la transfusion simple de plasma. L'échange plasmatique trouve toute sa logique quand le déficit est acquis, dû à un autoanticorps dirigé contre ADAMTS13, dont la preuve n'est apportée que rétrospectivement. Il n'y a pas de règle sur le rythme et la durée des séances. Le protocole généralement admis est un échange quotidien de 40 à 60 ml/kg de plasma, jusqu'à la normalisation des plaquettes (à un taux supérieur à 150 G par litre) et leur stabilisation pendant au mois 48 heures. La rémission est définie par la normalisation des plaquettes, des LDH et une remontée du taux d'hémoglobine.

Déficits complexes rares en facteur de coagulation

Le PFC est le seul produit capable d'apporter du facteur V, de la protéine S, du plasminogène, de l'ADAMTS13, car il n'existe pas de fraction purifiée stable de ces facteurs. De même, en cas de déficit en un facteur de coagulation pour lequel une préparation de facteur purifié est disponible, il peut être licite d'apporter du PFC dans le cadre de l'urgence hémorragique, s'il n'est pas possible d'obtenir rapidement la préparation de facteur purifié. La dose de PFC à transfuser est de 10 à 15 ml/kg de poids corporel.

Nouveau-né et enfant

Les indications du plasma y sont similaires à celles de l'adulte. Dans les maladies hémolytiques du nouveau-né par incompatibilité immunologique, le plasma est associé au concentré érythrocytaire dans les indications d'exsanguino-transfusion.

5.5 Transfusion de concentrés granulocytaires

Le concentré de granulocytes d'aphérèse (CGA) est un produit sanguin labile défini comme une suspension de granulocytes obtenus par aphérèse chez un donneur jugé apte médicalement. De tels donneurs sont préalablement soumis à un traitement par corticoïdes dans les heures précédant le don, afin d'obtenir une démarginalisation accrue des polynucléaires neutrophiles dans le sang circulant et en accroître le nombre dans le prélèvement. L'aphérèse, qui est d'une durée de 2 à 3 heures, consiste en la séparation et au recueil des granulocytes par centrifugation du sang total en présence d'un anticoagulant et d'un agent de sédimentation de type hydroxyéthylamidon, lequel améliore l'individualisation des constituants sanguins au cours de la centrifugation. Un grand nombre de globules rouges et de plaquettes sont aussi présents dans le CGA. La question de la mobilisation des neutrophiles par un agent (corticoïdes IV, facteurs de croissance) est posée, pour des raisons d'efficacité et d'éthique (risque donneur).

Le volume du CGA est compris entre 200 et 650 ml, en tenant compte du volume de la solution anticoagulante et de l'agent de sédimentation. Il contient au minimum 2×10^{10} granulocytes, avec un pH compris entre 6,5 et 7,5. Le CGA doit être conservé entre + 20°C et + 24°C pendant un maximum de 12 heures après la fin du prélèvement. En cas de rupture d'intégrité intentionnelle de la poche (pour réaliser une transformation du produit), cette durée est réduite à 6 heures. Pour son transport, le CGA doit être maintenu à une température aussi proche que possible de la température de conservation.

Il n'existe à ce jour pas d'alternative au prélèvement par aphérèse ; néanmoins se pose la question de revoir certaines pratiques d'utilisation des leucocytes résiduels des filtres de déleucocytation et des études en ce sens sont envisagées, bien que la légitimité même du PSL soit discutée par de nombreux experts sur la base d'une absence de preuve d'efficacité suffisante. Le risque donneur peut paraître trop élevé.

Qualifications et transformations

- *Concentré de granulocytes d'aphérèse phénotypé*: la qualification « phénotypée » du CGA peut s'appliquer aux systèmes de groupes sanguins

érythrocytaires, aux antigènes du système HLA ou aux systèmes de groupes granulocytaires, en cas d'immunisation préalable du receveur ou pour prévenir une allo-immunisation.

- *Concentré de granulocytes d'aphérèse compatibilisé* : cette qualification consiste en l'épreuve directe de compatibilité au laboratoire entre le sérum du receveur et le sang du donneur. On l'effectue en cas d'immunisation préexistante du receveur.
- *Concentré de granulocytes d'aphérèse « CMV-négatif »* : la recherche d'anticorps anti-CMV est négative chez le donneur au moment du prélèvement.
- *Concentré de granulocytes d'aphérèse-préparation pédiatrique* : cette transformation divise aseptiquement le CGA en sous-unités adaptées à l'usage pédiatrique. Chaque sous-unité a un volume minimal de 50 ml.
- *Concentré de granulocytes d'aphérèse-réduction de volume* : cette réduction s'obtient par l'élimination aseptique d'une partie du milieu de suspension, afin de répondre à des exigences de tolérance du volume transfusé par le receveur.
- *Concentré de granulocytes d'aphérèse déplasmatisé* : élimination aseptique de la majeure partie du plasma contenu dans le CGA par plusieurs étapes de lavage et remise en suspension des granulocytes dans une solution injectable. La quantité de protéines résiduelle doit être inférieure à 0,5 g. L'indication est l'intolérance aux protéines plasmatiques chez un receveur allergique.
- *Concentré de granulocytes d'aphérèse irradié* : cette irradiation, qui prévient la réaction du greffon contre l'hôte, est obligatoire pour tout CGA.
- Enfin, le CGA peut subir une *désérythrocytation* partielle par sédimentation et extraction du résidu érythrocytaire dès la fin du prélèvement.

En pratique, seules les deux dernières qualifications font réellement du sens dans le contexte d'urgence (vitale) dans lequel est en général prescrit un CGA : l'irradiation est systématique pour ce type de produit — qualifié *a minima* par dérogation puis *a posteriori* car sa durée de validité est inférieure à la disponibilité d'une QBD réglementaire — et la désérythrocytation s'impose en cas de conflit ABO ou RH majeur, le CGR étant fortement contaminé en globules rouges. On doit noter que seul un petit nombre de sites de prélèvement est habilité à prélever ce produit très spécifique et rare, nécessitant une compétence particulière et un vivier de donneurs bien particuliers et mobilisables très rapidement, ce qui impose une logistique d'acheminement du CGA prélevé vers le site de délivrance situé parfois à plusieurs centaines de kilomètres de celui de prélèvement.

Indications

Elles ont fait l'objet de recommandations de l'Afssaps en 2003 et se résument en des tableaux septiques bactériens ou fongiques graves, non contrôlés par

une chimiothérapie anti-infectieuse adaptée depuis au moins 48 heures et mettant en jeu le pronostic vital à court terme. De telles infections surviennent dans les contextes suivants :

- une neutropénie centrale sévère et durable inférieure à 0,2 G par litre (ou à 0,5 G par litre en cas de contexte infectieux gravissime), d'origine chimio-induite ou compliquant l'évolution d'une hémopathie maligne, d'une aplasie médullaire ou d'un déficit immunitaire ;
- une insuffisance fonctionnelle des polynucléaires neutrophiles, comme dans les granulomatoses septiques.

Parmi les indications les plus courantes, citons les cellulites (de la face, d'un membre, du siège ou encore sur cathéter), les foyers bactériens graves localisés (abcès du foie, du cerveau, encéphalite, foyer pulmonaire), l'aspergillose localisée ou disséminée, les candidoses (digestives, cutanées ou disséminées) ou d'autres infections fongiques localisées.

La dose à transfuser ne fait pas l'objet d'une recommandation précise, mais elle est définie par le contenu minimum du CGA fixé réglementairement à 2×10^{10} granulocytes. Il est cependant admis que des quantités plus importantes garantissent une meilleure efficacité transfusionnelle. À ce titre, une réévaluation régulière du contexte clinique doit statuer sur le bien-fondé de la poursuite du protocole transfusionnel, qui impose des transfusions quotidiennes du fait de la faible recirculation des granulocytes chez le malade. En pratique, la transfusion doit se poursuivre jusqu'à la sortie d'aplasie et/ou le contrôle de l'infection, celle-ci n'engageant plus alors le pronostic vital.

L'acte transfusionnel et sa surveillance

La contamination érythrocytaire des CGA impose de réaliser une épreuve de compatibilité ultime au lit du malade avant la transfusion. Cette dernière s'effectue lentement, en 1 à 2 heures. Elle peut être à l'origine de réactions de type frissons-hyperthermie, plus rarement de détresse respiratoire (dont le TRALI, éventualité redoutable). À distance, une immunisation antiérythrocytaire, anti-HLA, voire antileucocytaire peut apparaître et doit donc être recherchée.

5.6 Acte transfusionnel en général et surveillance du transfusé

La transfusion est un acte médical qui se trouve souvent délégué, du moins en partie, au personnel infirmier. Il ne se résume pourtant pas au branchement d'un produit sanguin labile (PSL) à un patient. Il est constitué

d'une multitude d'étapes successives, effectuées dans des lieux différents par des personnes de qualifications diverses (médecins, pharmaciens, infirmiers, techniciens de laboratoire, brancardiers, coursiers), parfois dans un contexte d'urgence vitale. Or, c'est précisément à l'interface de ces étapes que l'on constate le plus souvent la survenue de difficultés : une anomalie, même si elle peut de prime abord sembler anodine aux personnes qui en sont à l'origine, apparaît souvent comme le grain de sable à même d'enrayer le processus. La conséquence la plus redoutable reste l'administration à un receveur d'un PSL incompatible qui ne lui était pas initialement destiné. C'est pourquoi, à la suite du constat de problèmes graves et récurrents, le législateur a jugé nécessaire d'encadrer l'acte transfusionnel d'une batterie de textes réglementaires ayant pour but de réduire les risques liés à cette thérapeutique. Leur mise en application a été confiée au réseau « d'hémovigilance » — récemment renommé « d'hémovigilance et de sécurité transfusionnelle » par le décret du 12 septembre 2014 —, chargé de les expliquer, de les faire respecter, d'analyser les erreurs survenues au cours de l'acte transfusionnel et d'apporter les mesures correctives.

Cette section présente les étapes successives de l'acte transfusionnel, en soulignant les causes principales de défaillance du processus.

Indications de la transfusion

Après en avoir pesé les bénéfices et les risques, l'indication transfusionnelle est posée par le médecin, en fonction du contexte clinique et des données biologiques. Il convient de rappeler que le médecin reste toujours responsable de la transfusion qu'il a prescrite. Il peut s'aider, dans sa démarche, des recommandations de bonnes pratiques publiées par l'ANSM. Dès que l'indication de la transfusion est posée, on doit disposer d'un dossier transfusionnel : il faut le créer, ou le rechercher si le receveur a déjà été transfusé.

Le dossier transfusionnel du patient contient parfois des informations capitales, qui orienteront peut-être la prescription :

- protocoles transfusionnels antérieurs (PSL « CMV-négatif », irradiés, chez des patients greffés, par exemple) ;
- événements indésirables survenus lors de transfusions antérieures (antécédents d'allergie à certains PSL, intolérance au plasma, etc.) ;
- résultats positifs de la « recherche d'agglutinines irrégulières » (RAI), pouvant compliquer la délivrance des PSL ou influer sur les qualifications nécessaires (indication de concentrés érythrocytaires compatibilisés, rareté des donneurs compatibles, etc.).

Information et recueil du consentement du patient

Seul un contexte d'urgence permet de déroger à cet impératif réglementaire et légal (s'y soustraire volontairement est un délit pénal). L'information est délivrée par le médecin prescripteur lors d'un entretien et comprend deux phases successives :

- en préalable à toute décision de transfuser ou toute possibilité de recourir à une transfusion, il faut informer le patient de cette éventualité, de ses bénéfices et risques, puis recueillir son consentement éclairé. Un document explicatif pourra lui être remis — le document (même « bien fait ») ne peut pas se substituer à l'information orale, dont le recueil doit être tracé dans le dossier transfusionnel pour des raisons médico-légales ; en cas de difficulté, cette information peut être faite devant un tiers qui peut en témoigner. Le malade est en droit de refuser : l'accord ou le refus est mentionné dans le dossier transfusionnel ou, à défaut, dans le dossier médical. Si le receveur est mineur, c'est au titulaire de l'autorité parentale qu'est délivrée l'information et c'est ce dernier qui donnera le consentement ; la loi Kouchner du 4 mars 2002 qui régit cette information dans le cadre du droit des malades a simplifié la situation dans le cas du refus parental : le médecin peut décider de la transfusion au bénéfice de l'enfant sans l'accord requis expressément comme c'était le cas auparavant des autorités judiciaires ou du procureur de la République ; le refus de soin des mineurs a donné lieu à des jurisprudences anglo-saxonnes qui ne sont pas prises en compte par la législation française ;
- après l'acte transfusionnel, il faut confirmer au patient que la transfusion a bien eu lieu. La qualité et la quantité des PSL transfusés sont précisées dans un document, ainsi que la nécessité de procéder à un bilan post-transfusionnel. La mention de la transfusion doit figurer dans le courrier de sortie destiné au médecin traitant. Dans le cas où l'état clinique du receveur n'a pas permis de l'informer avant (urgence vitale, patient non conscient), il faut lui donner les informations sur la transfusion le plus tôt possible et tracer dans le dossier transfusionnel.

Les médecins chargés de l'hémovigilance et de la sécurité transfusionnelle dans l'établissement de soins transfuseur ont à charge de conserver et de valider les dossiers transfusionnels.

L'omission de l'information et du recueil du consentement des patients est souvent à l'origine de plaintes de ces derniers, surtout quand ils ont été transfusés au bloc opératoire ou en salle de réveil sous anesthésie générale. Ils découvrent alors, de manière fortuite, qu'ils ont été transfusés sans leur accord et peuvent en éprouver un ressentiment.

Prescription et prélèvement des examens prétransfusionnels

Les analyses prétransfusionnelles obligatoires sont indispensables à la délivrance des PSL ; la prescription de ce bilan est sous la responsabilité du médecin. Si ces analyses ont déjà été effectuées, il faut en fournir les résultats avec la commande des PSL. Pour transfuser, il est ainsi nécessaire d'avoir en sa possession :

- des documents de groupage sanguin valides, à savoir deux déterminations de groupe sanguin ABO phénotype RH KEL1 (D C E c e Kell), sur des prélèvements faits à deux moments différents et, si possible, par deux personnes différentes ; chaque groupage est effectué une fois en technique automatisée ou deux fois en cas — exceptionnel — de technique manuelle. Des critères stricts s'imposent à l'ensemble de la chaîne de l'analyse biologique (réactifs, contrôles de qualité, contrôles internes et externes, automates, informatisation, traçabilité, formation initiale et continue des personnels, accréditation, etc.) ;
- un résultat de RAI datant de moins de 72 heures. L'allongement du délai de validité de la RAI à 21 jours est toutefois envisageable sous certaines conditions (absence d'antécédents transfusionnels, de grossesse, de greffe) et à la demande exclusive du médecin prescripteur et sous réserve de l'accord du CSTH de l'établissement de soins ;
- éventuellement, une épreuve directe de compatibilité au laboratoire si l'on a connaissance d'une RAI positive ;
- un phénotype érythrocytaire plus étendu (groupes LE, FY, JK, MNS, etc.) est prescrit en cas de transfusions itératives (thalassémie, drépanocytose, dysérythropoïèse acquise) ou d'allo-immunisations antiérythrocytaires multiples.

L'identification du patient sur les tubes et sur la demande comprend obligatoirement le nom de naissance, le prénom, le nom d'usage le cas échéant, la date de naissance et le sexe (le nom marital ne figure plus comme tel dans les exigences, de par la Loi relative à la biologie médicale de 2010 et la Lettre du Premier ministre du 21 février 2012 visant à modifier les termes appréciant l'état civil dans les formulaires administratifs).

L'anomalie souvent constatée à ce niveau résulte d'une mauvaise identification des tubes à prélèvements, surtout si les deux déterminations ont été prélevées et étiquetées simultanément. Ceci va aboutir à l'établissement d'un document de groupe sanguin erroné : sur la carte de groupe, l'identité d'un patient est alors associée au groupe sanguin d'un autre.

▷

▷ Ces anomalies ont été à l'origine de transfusions ABO incompatibles gravissimes. La prévention consiste à procéder, de manière extrêmement soigneuse, à la vérification complète de l'identité du patient prélevé et à l'étiquetage des tubes en sa présence sitôt le prélèvement effectué.

Une attention particulière est portée aux patients non communicants ou présentant un état de conscience altéré.

Une seconde détermination conforme permet de rattraper certaines de ces erreurs, sur le constat d'une discordance entre les deux analyses.

Prescription et commande des produits sanguins labiles

Prescription

C'est un acte strictement réservé au médecin et qui engage sa responsabilité en tant que prescripteur de PSL. Après avoir posé l'indication de la transfusion, le prescripteur choisit le type de PSL et la quantité à transfuser, dans le respect des recommandations de l'ANSM. Pour cela, il doit rédiger une ordonnance spécifique portant obligatoirement :

- son nom et sa signature ;
- l'identité complète du receveur ;
- la date de la prescription ;
- le service destinataire ;
- les renseignements cliniques et les indications qui peuvent aider l'EFS ou le dépôt de PSL à choisir le produit sanguin le plus adapté au receveur ;
- la date et l'heure prévues pour la transfusion ;
- le degré d'urgence éventuellement, en distinguant l'urgence vitale immédiate, l'urgence vitale, l'urgence relative ;
- la nature des PSL (globules rouges, plaquettes, plasma), la quantité désirée et les qualifications supplémentaires éventuelles (par exemple, concentré érythrocytaire phénotypé RH, KEL, « CMV-négatif », compatibilisé, etc.) en accord avec un protocole transfusionnel éventuel ;
- pour le PFC, il convient de mentionner le motif de la prescription et le dernier bilan d'hémostase ; pour les concentrés plaquettaires, la numération plaquettaire du jour et le poids du patient (ces notions qui ne sont plus exigées demeurent néanmoins utiles à la bonne prise en charge du patient par le service de délivrance des PSL).

À tout moment du processus, un conseil transfusionnel réglementaire peut être sollicité auprès d'un médecin — ou, sous conditions (décret du 12 septembre 2014) d'un pharmacien — ayant satisfait à l'acquisition diplômante d'une formation spécialisée.

Pour de multiples raisons, la consultation des bilans biologiques par le personnel médical est souvent tardive dans la journée (début d'après-midi, contre-visite). La prescription de PSL non urgents est donc décalée dans le temps et aboutit à la réception des PSL dans le service en soirée. Ceci met souvent le personnel infirmier dans l'embarras : effectifs réduits, absence de médecin sur place, alors que la réglementation l'impose, mais obligation de respecter impérativement le délai de 6 heures pour transfuser.

En dehors de situations transfusionnelles urgentes, il suffirait de décaler la délivrance des PSL de quelques heures (le lendemain matin, par exemple) pour transfuser dans des conditions sécurisées et éviter ainsi des erreurs, lesquelles sont statistiquement plus nombreuses dans ces plages horaires.

Commande des PSL

Cette commande comprend la prescription médicale, les résultats des examens prétransfusionnels indispensables (documents de groupage sanguins valides — idéalement en possession du service de délivrance par voie informatisée —, RAI de moins de 72 heures) ou, à défaut, des prélèvements conformes pour les effectuer.

Différentes modalités de commande peuvent exister :

- demande de délivrance des PSL dès réception de la commande par l'EFS ;
- demande de délivrance des PSL à l'heure souhaitée par le prescripteur (transfusion prévue tel jour, à telle heure) ;
- mise en réserve des PSL à l'EFS ou au dépôt, quand on n'est pas certain de les transfuser (contexte chirurgical le plus souvent). La commande est prête mais n'est acheminée dans le service que sur demande. Cette pratique évite la destruction de PSL, qui ne sont repris par l'EFS que sous certaines conditions très strictes de traçabilité. Il existe également la possibilité d'un entreposage (dépôt intermédiaire) pour les établissements agréés.

Délivrance et transport des produits sanguins labiles

À réception de la commande, l'EFS ou le dépôt de sang prépare la délivrance des PSL demandés. En cas de non-disponibilité des produits à l'EFS ou au dépôt de sang de l'établissement, le prescripteur doit en être averti. Il décide soit de modifier sa prescription, soit de surseoir à la transfusion, le temps que les produits demandés soient disponibles. Hors contexte d'urgence vitale immédiate, la délivrance au transporteur ne peut s'effectuer que sur présentation par ce dernier d'un document portant l'identité exacte du receveur : duplicata de la prescription, étiquette informatisée du patient, etc.

Sur présentation du document justifiant de l'identité exacte du receveur, le transporteur se voit remettre la commande de PSL et les documents de délivrance *ad hoc*. Le transport peut être confié à du personnel interne à l'établissement (infirmière, coursier, brancardier, agent du service), quand le site distributeur de PSL est proche, ou à un prestataire extérieur (taxi, ambulance, etc.) conventionné pour cette activité, quand il est distant. Cette activité, qu'elle soit interne ou externalisée, est subordonnée à l'élaboration de protocoles de transport qui en définissent toutes les modalités (moyen de transport, conditionnement des PSL, temps de transport, température), y compris en dehors d'un contexte d'urgence. Elle doit évidemment être conforme à la réglementation en vigueur. Parfois, les commandes nominatives sont réceptionnées au sein de l'établissement de soins par un dépôt relais agréé, lequel se charge ensuite de l'acheminement vers le service. En cas de transport simultané de plusieurs « délivrances », il est recommandé de les séparer physiquement (mallettes individuelles, parfois même scellées) ; les documents de délivrance doivent idéalement être réconciliés avec la mallette de transport sous la forme d'une pochette laissant visible l'identité du receveur et l'indication du service hospitalier. Cette étape de transport est à l'origine d'un grand nombre de dysfonctionnements, dont certains ont pu être graves.

Réception et conservation des produits sanguins labiles dans le service

Réception des PSL

C'est une des étapes qui se doit d'être la plus sécurisée. En effet, il n'est pas rare que les erreurs d'attribution des PSL trouvent leur origine à ce niveau, surtout dans un contexte d'urgence transfusionnelle. C'est pourquoi le contrôle à réception de la commande de PSL doit être soigneux et systématique : il doit être effectué par du personnel formé à cette tâche et faire l'objet d'une procédure écrite. Il faut obligatoirement vérifier à réception :

- la destination du colis : identification du destinataire et de l'expéditeur (est-ce arrivé au bon endroit ?) ;
- la conformité de la livraison : aspect du colis, conformité du transport (délai, température à réception, conditions d'hygiène) ;
- la conformité des produits livrés :
  - nombre, nature, qualifications des PSL conformes à la prescription ;
  - intégrité des PSL et date de péremption (jour, heure) ;
  - concordance exacte d'identité entre la prescription et l'identité figurant sur le bordereau de délivrance accompagnant les PSL.

Il est souhaitable que l'ensemble des informations à vérifier soit rassemblé sur un document de type check-list. En cas de constatation d'une non-conformité, il faut contacter sans délai le service expéditeur.

Conservation des PSL dans le service jusqu'à la transfusion

La conservation des PSL dans un service doit être la plus brève possible. C'est pourquoi il faut fractionner les commandes pour limiter celles-ci. En tout état de cause, le produit sanguin ne doit pas être administré plus de 6 heures après la réception dans le service. Pour le plasma et les plaquettes, compte tenu de la diminution de leur efficacité thérapeutique lors de la conservation, il faut les transfuser dès réception, sitôt les contrôles prétransfusionnels effectués.

L'entreposage est fréquemment à l'origine d'erreurs d'attribution de PSL, telles que l'interversion de deux PSL destinés à des patients différents, surtout lorsque ces produits entreposés sont séparés de leur bordereau de délivrance, qui porte l'identité du receveur. Lorsque, en plus, le transfuseur omet la vérification du numéro du PSL lors du contrôle prétransfusionnel, l'accident n'est pas loin…

Réalisation de l'acte transfusionnel

C'est un acte médical souvent délégué à l'infirmier ou à la sage-femme sous certaines conditions, dont la plus importante, qu'il ne faut jamais négliger, est qu'en prescrivant un PSL, le médecin s'engage :

- à ce que le transfuseur soit apte à effectuer l'acte (formation initiale et continue) ;
- à la possibilité, pour le transfuseur, de demander l'assistance d'un médecin sans délai, si le prescripteur n'est pas disponible au moment de la transfusion ; dans ce cas, le prescripteur doit avoir fourni les coordonnées de ce confrère au transfuseur.

Comme dans la tragédie classique, la littérature transfusionnelle évoque souvent trois données incontournables :

- l'unité de lieu, qui signifie que tout doit se dérouler au même endroit en présence du patient, en particulier le contrôle ultime prétransfusionnel pour les CGR et les CGA ;
- l'unité de temps, qui veut dire que toutes les étapes sont effectuées successivement, juste avant la pose du PSL au receveur. Une interruption, même brève, impose de tout recommencer ;

- l'unité d'action, qui implique que, pour chaque PSL, le (même) transfuseur exécute de A à Z l'intégralité des différentes étapes, jusqu'au branchement du PSL et sa surveillance, sans en déléguer aucune à un collègue.

Étapes préalables à l'acte transfusionnel

Pour respecter les unités de lieu et de temps, il convient de disposer de tout le matériel et de tous les documents nécessaires à l'acte transfusionnel. Le patient doit être également présent dès le début de l'acte.

Préparer le matériel

Bien évidemment, il faut se pourvoir du PSL, d'une tubulure à transfusion munie d'un filtre, ainsi que du nécessaire pour poser cette tubulure. S'il s'agit d'un concentré érythrocytaire, il faut disposer également d'un dispositif de contrôle prétransfusionnel, ainsi que de tout le matériel pour effectuer ce contrôle. Il faut aussi avoir à disposition les instruments permettant la prise des constantes (tensiomètre, stéthoscope, thermomètre, etc.).

Réunir les documents indispensables pour transfuser

Pour cela, se munir de la carte de groupe sanguin ou des documents de groupage sanguins valides du patient et du résultat des dernières RAI (dossier transfusionnel), ou du résultat des RAI positives, d'un exemplaire du bordereau de délivrance qui accompagne les PSL et de la prescription médicale.

Préparer le receveur

On s'assure une dernière fois que le receveur a bien été averti de sa transfusion et on relève les constantes indispensables qui constituent l'état basal ; au minimum : pouls, tension et température. La surveillance peut être élargie (fréquence respiratoire, saturation en O_2) en fonction de l'état initial du receveur. Les constantes sont notées dans le dossier médical du receveur. En cas de constat d'une anomalie, le transfuseur demande confirmation de l'indication transfusionnelle et du débit de la transfusion au prescripteur.

Contrôle ultime prétransfusionnel

C'est l'ultime étape de vérification avant l'administration du PSL au receveur. Son exécution doit donc être parfaitement conforme.

Première étape : contrôle de concordance des documents (tableau 5.8)

Identité du patient

Elle comprend le nom de naissance, le prénom, le nom marital éventuellement, le sexe et la date de naissance. Il faut demander au patient de décliner lui-même son identité (question ouverte). Pour les patients inconscients ou

Tableau 5.8. Récapitulatif des vérifications de concordance des documents.

		Quoi ?			
		Identité complète du patient	Groupes sanguins	Numéros des PSL	Qualifi-cations du PSL
Où ?	Confirmation orale, à défaut bracelet d'identité ou dossier médical	×			
	Carte de groupe	×	×		
	Bordereau de délivrance	×	×	×	×
	Prescription	×			×
	PSL	Éventuellement	×	×	×

incapables de décliner leur identité, l'utilisation d'un bracelet d'identité est précieuse. Une vérification approfondie de l'identité sur le dossier médical est indispensable dans les autres cas. Cette identité est à vérifier ensuite sur la prescription, sur le bordereau de délivrance, sur la carte de groupe sanguin et sur le résultat de la RAI.

Groupes sanguins

Il faut vérifier la concordance entre les groupes sanguins (receveur et PSL) inscrits sur le bordereau de délivrance et ceux figurant sur la carte de groupe du receveur ainsi que sur l'étiquette du PSL. Attention : il est fréquent que les groupes du PSL et du receveur ne soient pas identiques (transfusions ABO compatibles de concentrés érythrocytaires de groupe O à un receveur de groupe A ou phéno-compatibles Rhésus, par exemple ; greffes de cellules souches hématopoïétiques discordante ABO/RH:1 entre le donneur et le receveur). Ceci ne doit évidemment pas conduire à la destruction du PSL. En cas de doute, se référer sans délai au service de délivrance.

Identification du PSL à transfuser

Le PSL est identifié par un numéro à 11 chiffres (numéro de don), associé au code du produit qui définit la nature et certaines des qualifications du PSL. On doit vérifier la concordance de ces informations sur l'étiquette du PSL et sur le bordereau de délivrance. Il convient également de vérifier que le PSL que l'on va transfuser correspond bien à la prescription médicale. Ce point a déjà dû logiquement être validé lors du contrôle à réception.

Des évolutions sont anticipées comme la RFID qui pourra sécuriser le lien don/produit/patient.

Plus de 75 % des incidents graves liés à la transfusion ont leur origine dans les établissements de soins, et plus de la moitié sont consécutifs à un dysfonctionnement sur l'identité des patients (source Afssaps, 2009).

Deuxième étape : contrôle de compatibilité ABO des CGR

Du fait de la nécessité de disposer des hématies du donneur pour la mettre en œuvre, seule la transfusion des concentrés érythrocytaires homologues ou autologues est concernée par cette deuxième étape (et celle, exceptionnelle, des CGA). Elle vérifie la compatibilité ABO entre le concentré érythrocytaire et le receveur à l'aide d'un dispositif spécialement conçu. Ce dispositif est constitué d'un carton sur lequel se trouvent des sérums tests prédesséchés anti-A, qui reconnaissent les antigènes de groupe A, et anti-B, qui reconnaît les antigènes de groupe B (figure 5.5). Une agglutination signe la reconnaissance de l'antigène par le sérum test.

Ce contrôle sert à établir le groupe ABO du receveur et du concentré érythrocytaire, et à en déduire si la transfusion est compatible ou non.

RECEVEUR	O		A		B		AB	
	ANTI-A	ANTI-B	ANTI-A	ANTI-B	ANTI-A	ANTI-B	ANTI-A	ANTI-B
CGR O (ANTI-A, ANTI-B)	TRANSFUSION POSSIBLE		TRANSFUSION POSSIBLE		TRANSFUSION POSSIBLE		TRANSFUSION POSSIBLE	
CGR A (ANTI-A, ANTI-B)	**TRANSFUSION INTERDITE**		TRANSFUSION POSSIBLE		**TRANSFUSION INTERDITE**		TRANSFUSION POSSIBLE	
CGR B (ANTI-A, ANTI-B)	**TRANSFUSION INTERDITE**		**TRANSFUSION INTERDITE**		TRANSFUSION POSSIBLE		TRANSFUSION POSSIBLE	
CGR AB (ANTI-A, ANTI-B)	**TRANSFUSION INTERDITE**		**TRANSFUSION INTERDITE**		**TRANSFUSION INTERDITE**		TRANSFUSION POSSIBLE	

Figure 5.5. Interprétation du carton de contrôle prétransfusionnel et compatibilité ABO des concentrés érythrocytaires.

Le carton de contrôle est un dispositif biologique. Il est important de vérifier sa péremption avant son utilisation et d'adopter une pratique rigoureuse afin d'obtenir des résultats fiables. Pour que le test soit interprétable, il faut introduire une quantité suffisante de sang du receveur (généralement anémié), ne pas mettre trop de sang du concentré érythrocytaire (dont l'hématocrite est élevé) et ne pas contaminer les sérums tests entre eux lors de la réalisation du contrôle. Il convient de noter sur le dispositif : l'identité complète du patient, l'identité du transfuseur, l'identification du concentré érythrocytaire, les résultats constatés, l'interprétation de ces résultats en termes de compatibilité ABO et la décision ou non de transfuser. S'il existe une discordance entre les résultats trouvés et les documents (carte de groupe, étiquette du concentré érythrocytaire), une difficulté d'interprétation ou qu'on constate une incompatibilité ABO, il faut interrompre l'acte transfusionnel et en référer au médecin responsable. Ce dernier décide alors de la conduite à tenir. Il peut contacter le médecin de l'EFS afin d'obtenir un conseil si nécessaire.

Pose de la transfusion

Après avoir vérifié que l'on est bien en deçà du délai de 6 heures, on peut débuter la transfusion proprement dite. Dans tous les cas où cela est possible, il faut préférer un accès veineux périphérique et éviter de transfuser en même temps d'autres médicaments. Seul le sérum physiologique est autorisé.

On connecte le transfuseur à la voie veineuse. Il faut opter pour un débit lent dans les premières minutes. Le débit définitif est adopté si l'on ne constate aucun signe d'intolérance. Ce débit dépend en outre de la prescription médicale et de l'état cardiaque et respiratoire du receveur. Une surveillance rapprochée est préconisée pendant les 15 premières minutes. La surveillance ultérieure est régulière, fonction de l'état clinique du patient et de sa tolérance à la transfusion. Elle permet de constater rapidement la survenue d'un événement indésirable.

Chez la personne âgée, insuffisante cardiaque, respiratoire ou rénale, il convient d'adapter le débit, de faire préférer une position semi-assise si compatible avec l'état du patient, et d'ausculter le patient à mi-transfusion et certainement entre deux PSL si plusieurs sont prescrits. La prescription simultanée de diurétiques est actuellement déconseillée.

Fin de la transfusion

À la fin de la transfusion, les constantes sont relevées et notées dans le dossier. Une fois le PSL passé, avant de débrancher la tubulure de l'accès veineux, il faut la clamper : on peut ainsi conserver son intégrité au produit

transfusé et éviter les souillures dans le cas où une analyse bactériologique du PSL s'avérerait nécessaire.

À chaque nouveau PSL, il convient de tout recommencer comme si c'était le premier.

La surveillance du patient doit être poursuivie quelques heures après le dernier produit transfusé, afin de repérer le moindre signe d'intolérance. Les PSL et les dispositifs de contrôle prétransfusionnel sont conservés au minimum 2 heures après la fin de la transfusion.

Événements indésirables receveur (EIR)

Parfois on constate, au décours de la transfusion ou dans les suites de celle-ci, des signes d'intolérance. Les événements indésirables sont classés en « immédiats » ou en « retardés » selon qu'ils surviennent dans les suites immédiates ou à distance de la transfusion. La déclaration de ces événements indésirables receveurs est obligatoire.

> **Code de la santé publique**
> **Art. R. 666-12-24. –** Tout médecin, pharmacien, chirurgien-dentiste, sage-femme, infirmière ou infirmier qui a connaissance de l'administration d'un PSL à un de ses patients et qui constate un effet inattendu ou indésirable, dû ou susceptible d'être dû à ce produit, doit le signaler sans délai au correspondant d'hémovigilance de l'établissement dans lequel a été administré le produit. À défaut, il le signale à tout correspondant d'hémovigilance d'un établissement de transfusion sanguine ou de santé, qui transmet cette information au correspondant d'hémovigilance compétent.

Les signes pouvant faire évoquer un « effet indésirable receveur » sont les suivants :

- signes généraux : angoisse, sensation de malaise, oppression thoracique, douleurs lombaires, frissons, hyperthermie ;
- signes cardiovasculaires : tachycardie, bradycardie, hyper- ou hypotension, choc cardiaque ;
- signes respiratoires : toux, dyspnée, OAP, désaturation en oxygène ;
- signes digestifs : nausées, vomissements, diarrhée, douleurs abdominales ;
- signes hémorragiques ;
- signes urinaires : oligo-anurie, hémoglobinurie ;
- signes cutanés : urticaire, prurit, subictère.

La conduite à tenir en cas de survenue de tels signes d'intolérance, mêmes s'ils apparaissent mineurs, est celle-ci :

- arrêter la transfusion mais maintenir absolument la voie d'abord ;
- avertir immédiatement le médecin responsable ou son remplaçant ;

- prendre les constantes (pouls, tension, température) ;
- traiter le patient ;
- vérifier la conformité de la transfusion (conformité du contrôle prétransfusionnel et vérification des documents) ;
- prélever et acheminer les examens requis en fonction des symptômes constatés : contexte allergique, infectieux, hémolytique, conflit immunologique, surcharge ;
- envoyer des tubes et les PSL concernés (avec leur tubulure) au site de l'EFS ou selon la procédure du CSTH de l'établissement de soins ;
- déclarer, dans les plus brefs délais (le décret indique « sans délai »), l'effet indésirable receveur à l'unité d'hémovigilance et de sécurité transfusionnelle et au site transfusionnel de l'EFS, pour permettre éventuellement de bloquer la délivrance de PSL issus du même don.

Traçabilité de l'acte transfusionnel

Archivage des éléments de l'acte transfusionnel

Dans le but de pouvoir, à tout moment, établir un lien donneur-receveur, qu'il soit descendant ou ascendant, il convient de conserver, au niveau de l'établissement de soins (dossier transfusionnel), et de transmettre au site distributeur de l'EFS les informations suivantes : l'identité exacte du receveur, le code produit et le numéro d'identification spécifique (numéro de don) du PSL transfusé. Il est souhaitable de pouvoir archiver également la date et l'heure de début de la transfusion, ainsi que les coordonnées du transfuseur.

Dossier transfusionnel

Il fait partie intégrante du dossier médical. Sa durée légale de conservation est de 30 ans. Il doit comporter tous les éléments ayant trait à la transfusion : prescriptions médicales, résultats des analyses immuno-hématologiques (carte de groupe, RAI), protocoles transfusionnels éventuels, récapitulatif de tous les PSL reçus, fiches de déclaration d'événements indésirables liés à la transfusion, partie manuscrite du carton de contrôle prétransfusionnel, un exemplaire des bordereaux de délivrance des PSL.

Devenir des PSL non transfusés

Les PSL non transfusés et détruits doivent tout de même être tracés. Il faut signaler leur destruction à l'hémovigilance et au site transfusionnel, ainsi que le motif de la non-transfusion.

Suivi du receveur

Évaluation de l'efficacité transfusionnelle des PSL transfusés

Dans les suites immédiates de la transfusion, on vérifie son efficacité à l'aide d'une numération post-transfusionnelle. En cas d'inefficacité non expliquée par l'état clinique (hémorragie, coagulation intravasculaire disséminée, etc.), il faut en rechercher la cause à l'aide d'un bilan biologique adapté et déclarer cet événement indésirable au réseau d'hémovigilance.

La non-prise en compte d'une inefficacité transfusionnelle plaquettaire peut avoir des conséquences redoutables chez des patients en aplasie post-chimiothérapie anticancéreuse par exemple. Un receveur présentant une immunisation anti-HLA ou anti-HPA méconnue risque alors un syndrome hémorragique majeur, faute de trouver à temps un concentré plaquettaire compatible.

Remise d'un document récapitulant les transfusions reçues par le patient

Après la transfusion, le receveur et/ou son médecin traitant sont destinataires d'un document récapitulant l'historique transfusionnel : date, lieu, qualité et quantité des produits transfusés.

Retour d'une information post-don vers le receveur

Quand l'EFS est destinataire d'une information concernant un PSL délivré à un receveur et transfusé (problème de santé chez le donneur, sérologie virale trouvée positive *a posteriori*, matériel défectueux, etc.), il est tenu d'en informer le prescripteur, lequel prend alors les mesures nécessaires. C'est une des raisons d'assurer une traçabilité parfaite des PSL entre donneur et receveur, y compris à l'EFS.

Suivi post-transfusionnel

Un à trois mois après la transfusion, il est proposé au receveur de bénéficier d'une RAI. En cas d'allo-immunisation post-transfusionnelle constatée, celle-là doit être considérée comme un événement indésirable retardé lié à la transfusion et faire l'objet d'une déclaration au correspondant d'hémovigilance de l'établissement de soins où s'est déroulée la transfusion.

Compte tenu de la réduction considérable du risque viral transfusionnel résiduel, la décision du 11 janvier 2006 ne recommande plus de suivi virologique pré- et post-transfusionnel pour les trois virus transfusionnels majeurs (VIH, VHB et VHC), comme c'était le cas auparavant.

Hémochromatose

Chez les receveurs polytransfusés itératifs (thalassémiques, drépanocytaires, etc.), on doit rechercher une surcharge en fer, qui pourrait être à l'origine d'une hémochromatose iatrogène.

Cas particulier de l'urgence vitale

Afin d'éviter des retards à la transfusion qui pourraient être dramatiques, l'organisation de l'urgence vitale transfusionnelle au sein d'un établissement doit être réfléchie et faire l'objet de procédures connues et appliquées par tous. Ce n'est pas au moment où l'on en aura le plus besoin qu'il faudra se demander comment acheminer les PSL rapidement jusqu'au receveur. Dans les cas où le site transfusionnel ou le dépôt de délivrance des PSL sont trop éloignés, on doit faire créer, au sein de l'hôpital ou de la clinique, une réserve de quelques PSL, que l'on conservera au sein d'un dépôt d'urgence vitale. Ce dépôt doit avoir été autorisé par l'Agence régionale de la santé et son représentant et par le directeur de l'ETS référent, responsable de l'audit annuel du dépôt ; son personnel doit remplir les conditions réglementaires et avoir bénéficié de formations spécifiques.

Si la transfusion d'un receveur ne peut attendre, le médecin doit prescrire les PSL en mentionnant clairement sur l'ordonnance un des trois degrés d'urgence définis :

- *urgence vitale immédiate* : la délivrance des PSL est réalisée sans délai, éventuellement avant d'avoir connaissance des analyses immuno-hématologiques nécessaires pour transfuser ;
- *urgence vitale* : le délai d'obtention des PSL doit être inférieur à 30 minutes, en tenant compte, dans la mesure du possible, des résultats des deux déterminations de groupage sanguin et éventuellement de la RAI, si celle-ci est disponible (ce qui peut être le cas informatiquement) ;
- *urgence relative* : le délai d'obtention des PSL est de 2 à 3 heures, ce qui laisse le temps de réaliser les analyses immuno-hématologiques réglementaires, voire l'épreuve de compatibilité prétransfusionnelle si besoin.

En revanche, la transfusion en urgence vitale ne dispense pas de pratiquer l'intégralité des étapes du contrôle prétransfusionnel ultime obligatoire avant toute transfusion, ni de prélever le bilan immuno-hématologique réglementaire avant de brancher le premier PSL, au risque, s'il est omis,

de ne pouvoir établir le groupe sanguin du receveur. La présence, dans son sang, des hématies du donneur pendant plusieurs semaines après la transfusion empêche souvent de rendre un résultat de groupe sanguin (doubles populations dans les groupes ABO et Rhésus) et donc de transfuser le patient comme il se doit.

Il faut prendre en compte, lors de la commande, du délai d'acheminement des prélèvements et des PSL dans la détermination du degré d'urgence. Hormis quand le site transfusionnel ou le dépôt (urgence vitale ou délivrance) est à proximité, il est rare que les PSL soient entreposés au bout du couloir du service !

Il ne faut pas considérer non plus la prescription en urgence vitale comme une pratique à laquelle on aurait recours par commodité ou à cause d'un simple problème d'organisation interne. Les concentrés érythrocytaires délivrés dans ces conditions, bien qu'étant les moins immunogènes possibles, ne sont pas dépourvus d'antigènes ! Et comme on ne connaît généralement pas le résultat de la RAI, on prend le risque, en les transfusant, de provoquer un choc hémolytique. En dehors d'un contexte d'urgence vitale, ceci n'est pas admissible.

Conclusion

L'acte transfusionnel ne semble pas, de prime abord, d'une complexité technique extraordinaire. Pourtant, il est souvent craint par le personnel devant l'effectuer, et le contexte d'urgence transfusionnelle n'arrange pas la situation. C'est pourquoi chaque étape décrite dans ce chapitre doit faire l'objet de procédures internes à l'établissement de soins, procédures rédigées, connues et respectées par le personnel médical, soignant ou technique, amené à intervenir dans le processus.

La formation initiale et continue à l'application de ces procédures ainsi qu'à la pratique transfusionnelle doit être délivrée et évaluée régulièrement au sein de l'établissement, à la suite des propositions du Comité de sécurité transfusionnelle et d'hémovigilance. Chaque dysfonctionnement, même minime, ne doit pas être banalisé ou ignoré, mais étudié et corrigé dans les plus brefs délais, et tracé *via* le système de management par la qualité de chaque établissement, partie prenante de la chaîne transfusionnelle.

6 Implications transfusionnelles dans la thérapie cellulaire

6.1 Cellules souches et thérapie cellulaire

La thérapie cellulaire est l'utilisation de cellules, souches ou non, à des fins de traitement dans deux grands contextes : la réparation fonctionnelle de tissus ou d'organes, correspondant à la médecine régénérative, et l'immunothérapie. Les cellules utilisées peuvent agir par remplacement fonctionnel des cellules lésées du tissu à régénérer, nécessitant leur intégration au long cours dans le tissu ; cependant, pour une régulation de la réponse immune ou un effet trophique, la greffe et la persistance au long cours ne sont pas une nécessité. La thérapie cellulaire ne peut s'envisager qu'en liaison avec l'ingénierie cellulaire, laquelle consiste à produire les cellules en accord avec les standards imposés par leur utilisation clinique.

L'ingénierie cellulaire correspond à l'ensemble des interventions réalisées sur les cellules, depuis leur recueil chez le donneur jusqu'à leur délivrance pour une utilisation clinique. Elle commence ainsi avec le simple recueil et le conditionnement et se poursuit jusqu'à la culture de cellules après tri et à l'utilisation de celles-ci, pour des interventions de thérapie génique, après transduction des cellules obtenues par un gène d'intérêt.

Les cellules utilisées au cours de la thérapie cellulaire sont soit des cellules matures du tissu ou de l'organe à régénérer (par exemple, des kératinocytes pour la peau) soit des cellules du système immunitaire, comme les lymphocytes T ou les cellules dendritiques, ou bien des cellules souches (cellules souches hématopoïétiques lors de la greffe de moelle).

En France, le système transfusionnel, notamment l'Établissement français du sang (EFS), a une place prépondérante en raison d'un savoir-faire développé depuis plusieurs décennies et d'une implantation à l'échelle nationale.

Types cellulaires utilisés

La thérapie cellulaire utilise plusieurs types de cellules : les cellules souches, les cellules de l'immunité et des cellules matures. Les cellules souches actuellement utilisées en application clinique sont les cellules souches hématopoïétiques (CSH) et les cellules souches mésenchymateuses, ou cellules stromales

© 2015 Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

mésenchymateuses (CSM). Les CSM sont des cellules souches pouvant se différencier en os, cartilage, tendon et tissu adipeux. Elles sécrètent de nombreuses cytokines et facteurs trophiques, qui participent à leur activité au cours de la réparation tissulaire. Enfin, elles sont immunosuppressives, cette action étant médiée par de nombreuses molécules (IDO, PGE2, HLA-G, IL-6, etc.) et s'exerçant sur la totalité des cellules de l'immunité acquise et innée. Les cellules de l'immunité utilisées en thérapie cellulaire ressortent de deux grandes catégories : les cellules présentatrices de l'antigène, dont font partie les cellules dendritiques et les lymphocytes T, soit spécifiques (par exemple, lymphocytes T anti-EBV) soit non spécifiques. Enfin, les cellules matures peuvent être utilisées dans la réparation spécifique d'un tissu. Il est à souligner qu'en la matière, les quantités obtenues sont encore très faibles et bien en deçà des seuils thérapeutiques.

Champ actuel de la thérapie cellulaire

Greffe de cellules souches hématopoïétiques

On peut considérer que la thérapie cellulaire a pris son essor dès les années 1960, avec l'utilisation de la greffe de CSH dans les hémopathies malignes. Depuis cette époque, bien que certaines indications comme la leucémie myéloïde chronique se soient réduites, le nombre de greffes de CSH a progressé, tant dans le traitement des hémopathies malignes (leucémies aiguës, lymphomes et myélomes) qu'en hématologie non maligne, comme dans le traitement des hémoglobinopathies. Ce développement est directement lié à l'amélioration de la prise en charge des effets secondaires et à une meilleure accessibilité à un greffon. Les greffons ne sont plus limités aux seuls greffons de donneurs familiaux HLA-compatibles : on peut utiliser les greffons de donneurs volontaires non apparentés et les greffons issus de sang placentaire. La mise en place d'un registre des donneurs volontaires de moelle osseuse, géré au sein de l'Agence de la biomédecine, et son interconnexion aux autres fichiers internationaux ont été la première étape. Ensuite a été mis en place un réseau de banques de sang placentaire, hospitalières ou mixtes, pour un usage allogénique qui, donnant un plus grand accès à un greffon, a permis de mieux couvrir les besoins. En 2008, 3 919 greffes de CSH ont été réalisées en France, dont 2 531 autogreffes et 1 388 allogreffes. Les greffons utilisés lors des allogreffes ont été recueillis au niveau du sang périphérique dans 720 cas, au niveau de la moelle dans 421 cas, et 241 greffons étaient des unités de sang placentaire.

On peut *ex vivo* cultiver les CSH afin d'obtenir un greffon plus riche contenant des cellules souches et des progéniteurs plus ou moins matures, ce qui diminue la période d'aplasie post-greffe et permet d'utiliser des unités de sang placentaire quantitativement insuffisantes.

Après transfection d'un gène dans les CSH, on peut réaliser de la thérapie génique pour corriger un défaut, comme chez les jeunes patients ayant un déficit immunitaire congénital.

Thérapie cellulaire et immuno-intervention

Par l'action du greffon contre la leucémie (effet « GVL »), l'allogreffe de CSH est par elle-même une immuno-intervention. Ainsi, après greffe de CSH, on peut faire de l'immunothérapie par injection de lymphocytes T du donneur pour agir sur la maladie résiduelle. Ceci est associable à une manipulation génique des lymphocytes T injectés, pour les rendre sensibles à une molécule en vue de les tuer si l'effet est non maîtrisé et entraîne une réaction du greffon contre l'hôte (GVH) importante. Les lymphocytes T spécifiques (par exemple, les lymphocytes T anti-EBV) ont montré leur efficacité dans des pathologies post-greffe liées à des infections virales chez le patient immunodéprimé. Enfin, l'injection de CSM permet de maîtriser la GVH corticorésistante, et ce d'autant qu'il s'agit de GVH digestive et de patients pédiatriques.

L'autogreffe de CSH est un traitement efficace dans des maladies auto-immunes sévères et résistantes comme le lupus. Par leur activité immunosuppressive, les CSM peuvent être une alternative thérapeutique, et des essais cliniques ont débuté dans la sclérose en plaques. Le traitement des cancers par immunothérapie représente un autre champ d'application : les cellules dendritiques sont ainsi utilisées dans des essais de traitement de tumeurs solides, comme le mélanome malin.

Thérapie cellulaire et médecine régénérative

La médecine régénérative est le troisième champ d'application de la thérapie cellulaire. De nombreux essais sont en cours, fondés sur l'utilisation de cellules souches adultes, telles que les CSM. Ces dernières peuvent régénérer des défauts osseux de grande taille, mais aussi traiter les pseudarthroses. Elles peuvent agir en tant que cellules progénitrices du tissu à régénérer (os, cartilage, reconstitution de la niche hématopoïétique), mais également par leur effet trophique et leur action immunosuppressive lors de lésion avec phénomène inflammatoire. Elles ont ainsi montré leur efficacité dans des modèles précliniques de réparation épithéliale (peau et cornée). Dans cette dernière utilisation, la greffe à long terme n'est pas nécessaire. Des études sont actuellement conduites pour savoir s'il est possible d'utiliser des CSM allogéniques sans avoir recours à une immunosuppression. Des cellules plus spécialisées (cellules limbiques ou kératinocytes) peuvent être utilisées pour la réparation de ces épithéliums. Des myoblastes ont pu être amplifiés *in vitro* et implantés localement au niveau cardiaque pour le traitement de l'insuffisance cardiaque

post-infarctus. Un essai clinique utilisant des cellules souches embryonnaires pour traiter des traumatismes de la moelle épinière vient de débuter aux États-Unis.

Thérapie cellulaire et produits sanguins labiles

Il est possible de produire *ex vivo* des cellules sanguines matures à partir des CSH. Cette production se fait par amplification et différenciation. Ainsi, on peut, à partir de CSH adultes et de sang placentaire, produire des globules rouges matures et fonctionnels. Des essais pour la production à échelle clinique d'hématies pouvant être utilisés en transfusion sont en cours. De façon similaire, des mégacaryocytes ont pu être produits. Au-delà de la production de concentrés érythrocytaires pour une utilisation clinique, on peut envisager l'utilisation de ces techniques pour assurer la production « calibrée » d'hématies de phénotypes particuliers en tant que réactifs.

Aspects réglementaires

La thérapie cellulaire est encadrée par une réglementation nationale et européenne. Au niveau français, cette réglementation dépend de l'Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé (ANSM) et, au niveau européen, de l'*European Medicine Agency*. En Europe, les produits de thérapie cellulaire sont considérés comme des *Advanced Therapy Medicinal Products*, qui comprennent les produits cellulaires pour la thérapie génique, les cellules somatiques et les produits de l'ingénierie tissulaire (Commission européenne EC n° 1394/2007). Cette réglementation s'applique depuis le 31 décembre 2008. Les CSH non manipulées ne sont cependant pas soumises à cette réglementation. La production des cellules utilisées pour la thérapie cellulaire doit répondre aux critères des bonnes pratiques de production, ce qui nécessite également la mise en place de contrôles de production et de délivrance pour assurer efficacité et sécurité. La conséquence immédiate de l'instauration de ces réglementations a été de considérer les cellules comme des « cellules médicaments » et à les produire selon des standards proches de la production pharmaceutiques de molécules médicamenteuses.

Perspectives

S'il est difficile de prédire les échéances de la thérapie cellulaire à moyen terme, on peut néanmoins envisager plusieurs étapes selon les cellules. Comme cela a été le cas pour les CSH, le recours aux cellules somatiques et aux cellules souches adultes devrait s'amplifier et, au-delà des essais cliniques, trouver une place dans les outils thérapeutiques. Par exemple, l'usage des CSM dans la réparation osseuse lors des pertes osseuses et des

défauts de consolidation devrait avoir dépassé les étapes des essais des phases 2 et 3, et donc être une réalité dans un horizon de cinq années.

Pour ce qui est des cellules souches embryonnaires et des cellules souches reprogrammées, ou *induced Pluripotent Stem Cells* (iPS), en raison notamment des problèmes de sécurité liés à leur utilisation, les échéances thérapeutiques semblent plus lointaines. Les cellules souches embryonnaires sont capables de se différencier dans tous les types cellulaires, mais elles donnent également des tératomes. Les iPS sont obtenues après reprogrammation d'une cellule adulte (fibroblaste, hépatocyte), initialement par transfection de quatre gènes (*c-myc*, *oct4*, *Klf* et *sox2*), et présentent des potentialités proches des cellules souches embryonnaires. Tant pour ces dernières que pour les iPS, il faut s'assurer qu'il ne persistera pas, dans le produit final, de cellule souche pluripotente capable soit de donner une différenciation ectopique non désirée au sein du tissu ou de l'organe à régénérer, soit une tumeur. Ces aspects sécuritaires, difficiles à aborder avec les outils de contrôle actuels, devraient repousser les utilisations cliniques au-delà d'une décennie. En s'entourant des précautions actuellement disponibles, cela ne doit pas pour autant empêcher la réalisation d'essais des phases 1 et 2, qui permettront tant de comprendre les mécanismes à l'œuvre en situation clinique réelle que de s'assurer que les sécurités appliquées sont effectives.

La thérapie cellulaire ne constituera pas le traitement de tout dysfonctionnement tissulaire ou organique, mais elle trouvera sa place dans l'arsenal thérapeutique aux côtés des molécules médicamenteuses. Les cellules resteront toujours des outils bien plus complexes que de simples molécules et, dans un premier temps, il faudra sans doute aller à des modes d'utilisation fondés sur la notion de balance bénéfice/risque. Enfin, les différents types de cellules souches ne s'excluront pas, mais trouveront des utilisations spécifiques et peut-être complémentaires.

6.2 Recueil et transfusion des produits de thérapie cellulaire en hématologie

Les techniques de thérapie cellulaire s'appuient essentiellement sur le remplacement ou la régénération de cellules pathologiques par des cellules saines et fonctionnelles. Ces approches reposent sur l'emploi de cellules souches capables d'autorenouvellement et de générer différents types de cellules aux fonctions spécifiques variées. Ces pratiques font l'objet d'une réglementation rigoureuse. Cette section est consacrée à l'usage des produits de thérapie cellulaire (PTC) en hématologie.

Recueil des produits de thérapie cellulaire

Deux types de greffons constituent à ce jour l'essentiel des PTC en hématologie : la moelle osseuse (allogénique) et les cellules souches périphériques (autologues ou allogéniques). L'usage de sang placentaire ne représente actuellement qu'une faible proportion des allogreffes réalisées. Les lymphocytes sanguins « allogéniques » peuvent également faire l'objet d'un recueil spécifique et êtres assimilés à des PTC. On distingue par ailleurs les procédures d'« autogreffe » et celles d'« allogreffe » :

- *procédures d'« autogreffe »* : le patient est son propre donneur. Les greffons les plus utilisés sont les cellules souches dites périphériques (car recueillies au niveau du sang), qui permettent une reconstitution hématologique bien plus rapide que les greffons issus d'un prélèvement direct de moelle osseuse (ces derniers étant beaucoup moins riches en cellules souches que les greffons issus du sang). Ces prélèvements directs de moelle osseuse autologue sont aujourd'hui pratiquement abandonnés. Les cellules souches périphériques (CSP) sont recueillies par aphérèse sanguine au décours d'une stimulation par des facteurs de croissance hématopoïétiques (FCH) qui délocalisent des cellules de leur niche osseuse vers le sang circulant. L'administration d'un greffon de CSP autologues entraîne une reconstitution hématologique optimale après un traitement myéloablatif (chimiothérapie à fortes doses, associée ou non à une irradiation corporelle totale) : ce dernier correspond au traitement de fond de l'hémopathie, l'autogreffe ne constituant que le traitement de support (tableau 6.1) ;
- *procédures d'« allogreffe »* : il est ici fait appel à un tiers HLA-identique, au mieux un membre de la fratrie, à défaut un donneur non apparenté recruté au sein des banques de donneurs anonymes. Ces donneurs anonymes représentent un potentiel mondial actuel de plus de 12 millions de personnes inscrites. En l'absence de tout donneur possible, le recours à des banques de sang placentaire peut aussi être envisagé. Il peut être fait appel, en l'absence de donneur HLA-identique, à un donneur seulement

Tableau 6.1. Principales indications d'autogreffe de CSP en Europe (année 2006).

Indications	Nombre de patients
Myélome	6 000
Lymphome non hodgkinien	4 600
Maladie de Hodgkin	1 700
Tumeurs solides non hématologiques	1 500
Leucémie aiguë	950
Maladie auto-immune	100
Autres	500

partiellement identique pour le système HLA (greffe dite *mismatch*), mais constituant alors une greffe plus à risque. La compatibilité HLA signifie une identité moléculaire au niveau des six antigènes de classe I (A, B, Cw) et des six antigènes de classe II (DRB1, DQB1, DPB1). La probabilité de trouver un donneur non apparenté varie selon la fréquence des haplotypes : de fort probable à presque nulle.

Les greffons allogéniques, outre leur capacité de reconstitution hématologique, apportent des cellules immunocompétentes à potentiel antitumoral, réduisant le risque de rechute de l'hémopathie, propriété dont sont théoriquement dépourvues les CSP autologues. *A contrario*, ces cellules peuvent engendrer des réactions de greffon contre l'hôte, ou *Graft versus Host* (GVH), potentiellement graves.

Les greffons de CSP, plus riches en cellules souches et en lymphocytes T que les greffons médullaires, permettent une reconstitution hématologique post-greffe plus rapide et un effet antitumoral (effet dit GVL, pour *Graft versus Leukemia*) plus important, mais au prix d'un risque plus élevé de GVH chronique sévère.

Le choix du greffon allogénique (moelle *versus* CSP) repose sur les convictions des médecins greffeurs, le souhait des donneurs, l'indication et les risques de rechute de l'hémopathie. Les procédures s'appliquant à l'usage clinique des PTC s'appuient sur les recommandations de l'arrêté du 16 décembre 1998 (« bonnes pratiques relatives aux thérapeutiques utilisant les cellules mononucléées du sang et les cellules hématopoïétiques ») et celles du référentiel JACIE (*Joint Accreditation Comittee of ISCT-Europe and EBMT*) pour l'accréditation des activités de greffe de cellules hématopoïétiques.

PTC autologues

La concentration sanguine en progéniteurs hématopoïétiques est, à l'état de base, extrêmement réduite. La réalisation de chimiothérapies aux propriétés « mobilisatrices » et le développement des FCH ont désormais supplanté les prélèvements directs de moelle osseuse autologue.

Bilan initial

Le bilan initial inclut :

- une consultation entre le médecin d'hémaphérèse et le patient, avec ouverture d'un dossier et information orale et écrite de la procédure de mobilisation et de recueil des CSP ;
- un bilan biologique réglementaire d'un point de vue médico-légal (sérologie des VIH, VHC, VHB, HTLV-I, TPHA, groupe sanguin, hémostase, ECG, etc.) ;
- l'information délivrée au patient : celui-ci doit être informé des effets secondaires attribuables aux FCH et de leurs risques (tableau 6.2) ;

Tableau 6.2. Fréquences des principaux effets secondaires du G-CSF.

Effets secondaires	Doses de 5 µg/kg
Douleurs osseuses : – grade I-II – grade III-IV	50 % 7 %
Céphalées	15 %
Fièvre	5 %
Splénomégalie	5 %
Rupture de rate	Exceptionnelle

- une évaluation de l'état veineux des membres supérieurs, afin de s'assurer de la faisabilité de l'aphérèse. Si le réseau veineux est inexploitable, la pose d'un cathéter double voie est planifiée.

Mobilisation des CSP par la chimiothérapie et les facteurs de croissance hématopoïétiques

Deux formes de G-CSF (*Granulocyte Colony Stimulating Factor*) sont actuellement disponibles : le filgrastim (forme non glycosylée issue d'*Escherichia coli* génétiquement modifié) et le lenograstim (forme glycosylée produite par des cellules d'ovaire de hamster chinois). Ces deux formes paraissent à peu près équivalentes en termes de potentiel de mobilisation des CSP et d'effets secondaires. L'arrivée des « biosimilaires » devrait élargir le choix parmi ces FCH.

Sur le délai d'introduction du G-CSF, les habitudes sont variables. Certains préconisent une introduction des FCH sitôt la chimiothérapie terminée, d'autres recommandent une introduction différée de quelques jours, sans perte de chance de mobilisation, ni majoration des risques infectieux en raison de la neutropénie chimio-induite. En pratique, l'introduction du G-CSF selon un rythme quotidien, 5 à 6 jours avant la date théorique de sortie d'aplasie et donc de la date théorique du recueil, apparaît amplement suffisante (tableau 6.3).

En termes de posologie, les ampoules disponibles contiennent, pour le filgrastim, 300 µg (30 millions d'unités) ou 480 µg (48 MU) de G-CSF ; pour le lenograstim, 103 µg (13,4 MU) et 263 µg (33,6 MU) de G-CSF. Le protocole débute par une chimiothérapie de mobilisation : 5 µg/kg par jour (soit 0,5 MU/kg) pour le filgrastim, 150 µg/m^2 par jour (soit 19,2 MU/m^2) pour le lenograstim. Pour des raisons pratiques, on injecte une ampoule par jour, pour une dose réelle allant de 4 à 6 µg/kg.

Plusieurs études contrôlées font état d'une efficacité conservée avec de faibles doses de G-CSF (de l'ordre de 3 µg/kg par jour) introduit après chimiothérapie, sans pour autant augmenter le nombre de cytaphérèse nécessaire parmi des patients en théorie « bons mobilisateurs » (faibles

Tableau 6.3. Exemples de procédés de mobilisation des CSP par chimiothérapie et FCH.

Chimiothérapie de mobilisation	Doses de G-CSF(μg/kg)	Date d'introduction du G-CSF (jour)	Date prévisible du recueil de CSP (jour)
Cyclophosphamide (J1 ± J2)	5	J8	J12 à J16
CHOP (J1)	5	J8	J13-J14
ACVBP (J1 et J5)	5	J8	J14
DHAP (J1 et J2)	5	J8	J14
Velcade (J1-J11)	10	J16 à J20	J20 à J25
CYVE (J1 à J5)	5	J10	J15-J21
Anthracycline-aracytine (J1-J7)	5 à 10	J22	J28

antécédents thérapeutiques, absence d'infiltration médullaire majeure). D'autres études mettent en évidence une plus grande quantité de CSP mobilisées avec des doses de G-CSF supérieures à 5 μg/kg par jour, sans toutefois noter de bénéfice franc vis-à-vis de l'autogreffe. D'autres n'ont pas retrouvé d'« effet-dose » du G-CSF utilisé après chimiothérapie pour des posologies variant de 3 à 23 μg/kg.

La mobilisation des CSP par le G-CSF peut être suscitée en « monothérapie », sans administration de chimiothérapie préalable ou associée à des chimiothérapies très peu mobilisatrices. La posologie alors requise est de 10 μg/kg par jour en sous-cutanée, sur une période de 5 à 6 jours. La mobilisation des CSP est effective entre le 4e et le 6e jour, avec un pic observé au 5e jour.

Il n'y a pas de consensus sur le choix de la meilleure stratégie. Ce choix tient compte du contexte clinique, du programme de chimiothérapie à réaliser, de la détection de cellules tumorales circulantes, de contraintes protocolaires, etc. Pour certains, l'association chimiothérapie/G-CSF permettrait l'obtention de greffons plus riches que l'emploi du G-CSF en monothérapie, mais ceci toutefois au prix d'une toxicité accrue.

On dispose aussi de « nouveaux » agents de mobilisation :

- le pegfilgrastim est la forme pégylée du filgrastim, ce qui lui confère une demi-vie plus longue en réduisant son élimination par le rein. Ne subissant plus que la clairance de son récepteur présent sur les polynucléaires, ce médicament permet le maintien d'une activité de stimulation au moyen d'une seule injection en tout et pour tout, et ce tant que la neutropénie persiste. Ce FCH, qui est réservé aux traitements des neutropénies chimio-induites, possède, tout comme le filgrastim, des capacités de mobilisation de CSP et fait actuellement l'objet d'une évaluation dans cette indication.

Sa commodité (une seule injection) est d'intérêt, mais son coût élevé mérite d'être évalué dans cette stratégie ;

- les « biosimilaires » sont à distinguer des formes génériques ; l'arrivée sur le marché de produits semblables au G-CSF tend à se développer et à réduire les coûts ;
- l'AMD3100 (Plerixafor®) est un antagoniste spécifique du complexe CXCR4/SDF-1, élément de liaison capital des CSP au micro-environnement médullaire. Une injection sous-cutanée (de 240 µg/kg) entraîne, dans la même journée, une mobilisation substantielle de CSP. Sa combinaison avec le G-CSF permet une mobilisation plus importante encore et pourrait, dans certains cas, réduire le nombre de cytaphérèse nécessaire. Ce médicament, extrêmement coûteux, doit être réservé aux échecs francs de mobilisation.

Évaluation de la mobilisation des CSP : un préalable utile avant le recueil

Il faut en premier lieu s'assurer de la sortie d'aplasie en cas d'administration d'une chimiothérapie préalable. La quantification de la concentration sanguine en cellules exprimant l'antigène $CD34^+$ par cytométrie est le reflet de la concentration en CSP : un minimum de 10 cellules $CD34^+$/µl est généralement requis avant de débuter une cytaphérèse. Entre 10 et 20 % des patients peuvent connaître un échec de mobilisation des CSP depuis le compartiment médullaire jusqu'au sang. Un âge plus avancé, une localisation médullaire de l'hémopathie, la lourdeur des chimiothérapies et radiothérapies reçues dans le passé, des prédispositions génétiques sont autant d'éléments susceptibles d'entraver cette mobilisation.

Recueil de CSP

Deux voies d'abord veineux sont posées. Si le réseau veineux superficiel est trop médiocre, un cathéter double voie est placé avant la séance de cytaphérèse. Le recueil de CSP s'effectue par circulation sanguine extracorporelle, soumise à une technique de centrifugation sur un séparateur de cellules sous l'égide d'une infirmière habilitée. La couche des cellules mononucléées, où se situent les CSP ainsi isolées, est « aspirée » vers une poche de collection. Une anticoagulation est assurée par une perfusion de citrate sur le circuit d'entrée de la machine. Un retour d'une partie de la solution citratée vers le patient peut entraîner des hypocalcémies, que prévient l'administration de calcium sur la voie de retour vers le patient.

La prescription précise le nombre de masses sanguines à traiter par le séparateur de cellules. Si la concentration sanguine en cellules $CD34^+$ est relativement faible (< 30-50/µl), un minimum de 2 à 3 masses sanguines doit être traité pour atteindre un objectif de collection en une seule séance. Inversement, une forte concentration (> 100/µl) permet d'envisager une durée de recueil courte (1 à 2 masses sanguines traitées). L'objectif du

recueil varie suivant les indications, les habitudes des praticiens et les projets thérapeutiques. Un minimum de 2 à 3×10^6 cellules CD34+/kg pour la réalisation d'une autogreffe est généralement préconisé et souvent atteint en une à deux cytaphérèses.

La quantification des cellules CD34+ recueillies après chaque cytaphérèse permet de poursuivre ou de cesser les séances, selon que les objectifs sont atteints ou pas. La poursuite des cytaphérèses impose la poursuite de l'administration quotidienne de G-CSF.

Par ailleurs, les poches sont « contaminées » à des niveaux variables par des plaquettes, ce qui peut être à l'origine d'une thrombopénie périphérique chez le donneur, en règle modeste (le taux restant supérieur à 50×10^9 par litre) et, dans la majorité des cas, sans conséquence. L'enchaînement quotidien de cytaphérèses peut toutefois entraîner une thrombopénie de plus grand risque, pour laquelle il appartient au médecin d'hémaphérèse de décider de transfuser ou pas des concentrés plaquettaires irradiés. Les poches de collecte vont également contenir des niveaux très variables de polynucléaires neutrophiles (5 à 50 %), susceptibles d'avoir une toxicité sur le greffon et donc d'altérer ses capacités de reconstitution hématologique. Enfin, la cytaphérèse suscite chez le patient un certain niveau d'hémodilution responsable d'une baisse du taux d'hémoglobine (de 2 à 3 g/dl), notée sur le contrôle sanguin effectué en fin de séance. Elle n'est pas liée à une spoliation de globules rouges et ne justifie pas la transfusion de concentrés globulaires irradiés.

Parmi les autres mesures, il faut mentionner : une asepsie optimale (douche à la Bétadine®, port de gants, kits de cytaphérèse et matériel à usage unique, désinfection des voies d'abord veineuse, etc.) ; le patient n'a pas besoin d'être à jeun. Il doit être rassuré et mis dans un climat de confiance ; une couverture chauffante a pour but de dilater le réseau veineux superficiel ; les constantes vitales sont régulièrement surveillées et notées (scope si besoin) ; le recueil doit avoir lieu dans un bâtiment doté d'une unité de réanimation. Il faut systématiquement irradier les produits sanguins destinés au donneur inscrit sur un programme de recueil de CSP autologues (au moins 7 jours avant le recueil et 3 mois après la greffe). En effet, la contamination du greffon par des lymphocytes T allogéniques transmis lors de la transfusion et ainsi réinjectés après autogreffe pourrait déclencher une réaction de GVH post-transfusionnelle. En revanche, il ne faut évidemment jamais irradier le greffon !

Gestion des échecs de la mobilisation des CSP autologues

Cette situation, qui touche 10 à 20 % des patients, peut être liée à une absence de mobilisation des CSP (moins de 10 cellules CD34+/µl de sang), pour lesquels les cytaphérèses n'ont pas été réalisées, ou à un échec de recueil dû à une mobilisation insuffisante ou insuffisamment soutenue le

long de l'aphérèse (moins de 2×10^6 CD34$^+$/kg). Les stratégies de rattrapage sont les suivantes :

- une nouvelle tentative de mobilisation 6 mois après l'arrêt de toute chimiothérapie ; cette pause pour la moelle osseuse n'est pas toujours réalisable, si les cures de chimiothérapie à venir sont pressantes ;
- la collection directe de moelle osseuse est laborieuse, ne permettant souvent qu'un recueil modeste ;
- le G-CSF à doses relativement fortes (10 µg/kg/j pendant 5 jours), sitôt une brève période de « repos » de l'ordre de 7 jours après l'échec initial, permet de rattraper deux tiers des échecs ;
- l'administration combinée de G-CSF et d'AMD3100 pourrait s'avérer une solution de choix après des échecs francs.

PTC allogéniques

Mobilisation sanguine des CSP « allogéniques »

Le recours aux CSP allogéniques est en augmentation constante depuis 10 ans et représente actuellement plus de la moitié des allogreffes réalisées en Europe. Cette percée s'explique notamment par un recours croissant à des greffes précédées d'un conditionnement non myéloablatif, pour lesquelles les greffons médullaires (moins riches en cellules souches) n'offrent alors pas assez de garantie de reconstitution hématologique.

Lorsque plusieurs donneurs allogéniques sont disponibles, le choix dépend du sexe du couple donneur-receveur (en privilégiant une identité de sexe), de l'âge (le plus jeune), du nombre de grossesses (le minimum possible), des statuts sérovirologique (notamment du cytomégalovirus) et toxoplasmique, de la concordance des groupes ABO, des éventuelles contre-indications au don. Les CSP allogéniques sont obtenues auprès de donneurs sains majeurs, après une sélection soigneuse, afin de réduire au mieux les risques, tant pour le donneur que pour le receveur (cf. encadrés et tableau 6.4). La mobilisation est effectuée par du G-CSF en monothérapie,

Tableau 6.4. Accidents graves survenus au cours d'un don allogénique dans une large cohorte européenne.

	Don de moelle osseuse	Don de CSP
Nombre de dons	27 700	23 300
Nombre d'accidents mortels	1	4
Incidence des accidents sévères non mortels	4,3 sur 10 000 (95 % CI 2,2-7,7)	10,7 sur 10 000 (95 % CI 6,9-15,8)
Incidence d'hémopathie maligne	Comparable à la population générale	

administré durant 5 jours à la posologie quotidienne de 10 μg/kg par voie sous-cutanée, répartie en une ou deux injections. Une réserve est à mentionner pour les donneurs sains âgés de plus de 60 ans, pour lesquels le G-CSF ne dispose pas encore d'autorisation de mise sur le marché dans cette indication. Toutefois, de nombreuses équipes sélectionnent de tels candidats au don, sous réserve d'un bilan particulièrement minutieux.

Bilan usuel d'un donneur de PTC allogéniques

- Vérification de la compatibilité HLA sur deux examens.
- Interrogatoire et examen clinique.
- Bilan métabolique.
- Sérologie des VIH, VHC, VHB, HTLV-I et syphilis, détection de l'ADN du VHB, de l'ARN du VIH et du VHC.
- Sérologie des CMV, EBV, toxoplasmose.
- Radiographie de thorax, électrocardiogramme.
- Test de grossesse (selon contexte).
- Consultation en anesthésie.

Contre-indications du G-CSF chez le donneur sain (selon l'Agence de biomédecine)

- Sujet mineur sain.
- Contre-indication à une anesthésie générale (sauf si celle-ci relève d'une allergie aux produits d'anesthésie).
- Femme enceinte.
- Antécédent de cancer (moins de 5 ans).
- Antécédent d'hémopathie maligne.
- Splénomégalie.
- Maladie auto-immune ou inflammatoire chronique.
- Maladie thromboembolique, coronaropathie, hypertension artérielle sévère, insuffisance cardiaque.
- Antécédent thromboembolique familial au premier et deuxième degrés sans avis d'un spécialiste.
- Donneur non apparenté âgé de plus de 50 ans.
- Avis d'un spécialiste en cas de facteur de risque cardiovasculaire (diabète, tabagisme).

Un document d'information doit être remis au donneur. La surveillance de la numération est exigée la veille du prélèvement, afin de s'assurer que le donneur ne présente pas une hyperleucocytose excessive (au-dessus de 70×10^9 par litre), laquelle motiverait une suspension des injections de G-CSF. Les modalités du recueil sont identiques à celles des CSP autologues, avec quelques nuances :

- un test de grossesse négatif, datant de moins de 7 jours par rapport au début du conditionnement du receveur, est obligatoire pour les femmes en âge de procréer ;
- un consentement éclairé et signé du donneur doit être obtenu ;
- les objectifs de recueil sont prescrits par les médecins greffeurs (4 à 8×10^6 cellules $CD34^+$/kg de poids du receveur). Une quantité moindre serait plus à risque de rejet (surtout pour les greffes à conditionnement atténué), une quantité supérieure plus à risque de réaction de GVH ;
- le médecin traitant du donneur doit être tenu au courant des traitements délivrés. L'équipe de préleveurs doit être tenue informée d'éventuels problèmes de santé survenus à court et long terme chez le donneur (cf. encadré).

Une sérologie VIH ou HTLV-I-positive est une contre-indication au don allogénique. Des dérogations peuvent être accordées pour des sérologies VHC ou VHB-positives. Compte tenu des risques (même très faibles) de choc anaphylactique après une injection de G-CSF, il est désormais recommandé de procéder à la première injection en milieu hospitalier.

Conséquences possibles de l'administration de G-CSF chez les donneurs sains

- Hyperleucocytose (jusqu'à 10 à 15 fois les valeurs normales).
- Thrombophilie (les accidents thrombotiques vrais demeurent toutefois rares).
- Fréquentes douleurs osseuses, avec céphalées en règle calmées par les antalgiques usuels.
- Accident sérieux ou graves (< 1 % des cas) :
  - rupture splénique (exceptionnelle) ;
  - accident vasculaire thrombotique ;
  - crise de goutte ;
  - poussée d'une maladie auto-immune préexistante ;
  - toxicité pulmonaire aiguë ;
  - allergie ;
  - thrombocytopénie sévère transitoire après le recueil des CSP.
- En revanche, il n'y a pas de risques identifiés à long terme.

Recueil de moelle osseuse

Il concerne, désormais, essentiellement les greffons allogéniques. Les donneurs sont généralement les membres de la fratrie sans limite d'âge précise, ou des donneurs non apparentés de moins de 60 ans. Les mineurs peuvent également être donneurs, sous réserve de l'accord de l'autorité parentale et d'un comité d'experts. Le consentement du donneur doit être exprimé devant un juge du tribunal de grande instance, qui devra retourner un procès-verbal à l'équipe médicale — curieusement, cette formalité n'est pas requise pour le don allogénique de CSP !

Le recueil s'effectue au bloc opératoire sous anesthésie générale, sous une stricte asepsie, à l'aide de trocarts, au niveau des crêtes iliaques postérieures. La moelle prélevée est transférée dans une poche contenant une solution anticoagulante. Il faut veiller à ce que chaque aspiration ne prélève qu'un volume modéré de moelle osseuse (pas plus de 4 à 5 ml), afin de ne pas entraîner de dilution excessive avec du sang. On prélève plusieurs puits à diverses profondeurs.

L'objectif du recueil, prescrit par le médecin greffeur, est généralement de l'ordre de 2 à 3×10^8 cellules nucléées/kg de poids du receveur, sans toutefois dépasser un volume maximal de 20 ml/kg de poids du donneur.

Plusieurs études ont mis en évidence une amélioration significative du pronostic des leucémies aiguës lorsqu'un nombre de cellules nucléées greffées atteint 3×10^8/kg.

Si le prélèvement de moelle au niveau iliaque postérieur s'avère insuffisant, un complément de prélèvement s'effectue au niveau sternal et iliaque antérieur. Au terme du prélèvement, un pansement compressif conforte l'hémostase locale. La sortie du donneur est accompagnée d'une prescription d'antalgiques et de fer.

Le transport des poches de moelle au laboratoire de thérapie cellulaire est aussitôt effectué, dans un coffret rigide isotherme. Les documents de traçabilité (trocarts, poche de recueil, lot d'héparine), fiche de transport, compte rendu du prélèvement sont complétés.

Dans de rares situations, il peut être envisagé de programmer une transfusion autologue de concentrés globulaires pour le donneur. S'il existe une franche disproportion de poids entre le donneur et le receveur, couplé à la nécessité de réaliser une désérythrocytation en raison d'une incompatibilité majeure ABO (source de perte en cellules souches), les volumes importants de moelle osseuse à prélever peuvent entraîner une déglobulisation.

Au laboratoire, la moelle subit une filtration destinée à éliminer les débris osseux et les agrégats cellulaires, avant sa transfusion au patient, ainsi qu'un contrôle bactériologique. Un contrôle de qualité du greffon évalue la quantité totale de cellules nucléées, la concentration en cellules $CD34^+$, en CFU-GM, en lymphocytes T, ainsi que le niveau d'hématocrite.

Recueil ciblé des lymphocytes par cytaphérèse : « lymphaphérèse »

Les indications principales sont :

- la réalisation de séances de photochimiothérapie extracorporelle pour le traitement d'une GVH chronique après allogreffe : les lymphocytes collectés chez le patient font l'objet d'un traitement *ex vivo* comprenant une incubation avec du méthoxsalen, suivie d'une illumination par des ultraviolets. La poche de lymphocytes ainsi traités est « retournée » au patient par simple transfusion. Ce procédé susciterait un phénomène d'immunomodulation capable d'atténuer les réactions de GVH. Cette stratégie exige au départ des séances souvent pluri-hebdomadaires, pouvant se prolonger sur plusieurs mois. Cette technique est également appliquée aux traitements de certains lymphomes T cutanés ;
- la transfusion d'un contingent supplémentaire de lymphocytes allogéniques recueillis auprès du donneur initial pour les transfuser au receveur d'un précédent greffon, afin de renforcer son immunité antitumorale : le donneur initial est à nouveau sollicité et soumis à une séance de lymphaphérèse ; les lymphocytes T recueillis sont quantifiés puis transfusés (ou congelés) au receveur, selon la posologie prescrite par le clinicien (entre 10^6/kg et 10^8/kg). La collection des lymphocytes s'effectue exactement comme celle des CSP, mais sans stimulation préalable par du G-CSF.

Traitement des produits de thérapie cellulaire au laboratoire

Les PTC prélevés sont acheminés dans les meilleurs délais au laboratoire de thérapie cellulaire, sous couvert d'une identification (étiquetage), traçabilité et sécurité (tubulures scellées, emballage rigide et isotherme), et y font l'objet d'une évaluation (cf. encadré). Le traitement *ex vivo* des PTC y est effectué sous des conditions d'hygiène strictes et selon des procédures validées :

- en cas d'incompatibilité ABO entre les hématies du donneur et le plasma du receveur (incompatibilité dite « majeure »), il faut réduire le nombre de globules rouges du PTC : l'hématocrite du greffon médullaire étant élevé (équivalent à celui du sang), une « deserythrocytation » s'impose avant transfusion. L'hématocrite des poches de CSP est en revanche très faible (< 5 %), il n'est, en règle, pas nécessaire d'effectuer de manipulation *in vitro* pour éliminer les hématies ;
- en cas d'incompatibilité « mineure » entre le plasma du donneur et les hématies du receveur, il faut « déplasmatiser » le greffon si la présence d'hémolysines anti-A et/ou anti-B est de titre élevé (> 1/32) chez le donneur, car ces anticorps sont susceptibles d'hémolyser les hématies du malade. Ceci ne s'applique qu'aux greffons de moelle, les CSP ne contenant que peu de plasma ;

- en cas de volume trop important du PTC, pouvant induire une surcharge vasculaire chez le receveur, le greffon peut être « réduit », en éliminant la fraction de globules rouges et de plasma par technique de *buffy coat* ;
- les PTC non immédiatement transfusés sont congelés avec du diméthylsulfoxyde (DMSO), afin de prévenir la microcristallisation des molécules d'eau, élément toxique pour les cellules. Lors de la décongélation des PTC (au laboratoire), il est conseillé de « laver » le greffon pour diminuer le plus possible la concentration en DMSO, lequel pourrait induire, chez le receveur, des réactions à type de nausées, éruption, bradycardie, hypoxie, etc. ;
- enfin, un contrôle bactériologique doit être effectué sur tout PTC.

Évaluation du greffon de CSP

- Elle repose sur :
  - quantification des cellules $CD34^+$: $\geq 3 \times 10^6$/kg pour une greffe ;
  - numération-formule de la poche de recueil ;
  - quantification des CFU-GM obtenus après 14 jours de culture ;
  - proportion de polynucléaires neutrophiles (la plus réduite possible) ;
  - examen bactériologique ;
  - reconstitution hématologique post-autogreffe (élément rétrospectif).
- Évaluation du donneur post-don :
  - évaluation clinique ;
  - numération-formule sanguine, taux de plaquettes.

Exemples de traitements expérimentaux :

- le « tri CD34 » en vue de thérapie génique ou de greffe haplo-identique en HLA consiste à trier les cellules du greffon en les faisant passer dans une colonne immunomagnétique, qui sélectionne les cellules exprimant l'antigène CD34 où se trouvent les cellules dites souches, tout en éliminant les cellules « indésirables », notamment les lymphocytes T ;
- l'expansion des progéniteurs hématopoïétiques consiste en leur mise en culture avec des associations de FCH, afin de développer *in vitro* des greffons plus prompts à une reconstitution hématologique précoce après autogreffe ;
- la préparation de cellules dendritiques à visée antitumorale est la mise au point de cellules spécifiquement éduquées *in vitro* à lutter contre des antigènes tumoraux (ou viraux).

Transfusion des produits de thérapie cellulaire

Cette transfusion est réalisée au décours du conditionnement (chimiothérapie intensive, avec ou sans radiothérapie corporelle totale) au terme

d'un délai ayant permis l'élimination naturelle des drogues cytotoxiques (en règle : 48 heures). Dans certaines circonstances, exclusivement allogéniques, on peut réaliser un conditionnement d'intensité réduite, visant simplement à neutraliser les mécanismes immunitaires de rejet du greffon : on parle alors de greffes à conditionnements atténués. Dans ce contexte, les greffons utilisés sont essentiellement des CSP, car elles sont plus riches en progéniteurs hématopoïétiques que les greffons médullaires, et donc moins susceptibles de rejets.

Procédures de réception et administration des produits de thérapie cellulaire

La réception et la transfusion des PTC sont des procédures à risque, qui doivent être exécutées par un personnel qualifié. En effet, les PTC étant en règle uniques et donc non remplaçables, la moindre erreur peut avoir des conséquences dramatiques.

Les opérations de transfert du greffon depuis le laboratoire au service greffeur jusqu'à son administration au patient, font l'objet d'une traçabilité écrite. Le transport s'effectue dans une boîte isotherme rigide. L'infirmière s'assure de l'intégrité de la poche du PTC. Le patient est tenu informé du déroulement et des réactions possibles. Il faut s'assurer qu'il n'y a pas eu de décalage entre l'administration de la chimiothérapie du conditionnement et la transfusion, décalage susceptible d'impacter sur le greffon.

Il faut vérifier que les RAI datent de moins de 72 heures. L'infirmière contrôle la concordance entre les identités du patient et du donneur, les fiches de décongélation de transport, d'administration du PTC, et renvoie les informations au laboratoire de thérapie cellulaire. Elle vérifie en outre la concordance entre les groupes sanguins, ainsi que l'heure de péremption du produit. Pour les greffes de moelle osseuse non désérythrocytée (riche en hématies potentiellement non ABO-compatibles), une épreuve de Beth-Vincent est réalisée « au lit du patient ».

Pour les allogreffes, il faut impérativement retourner au site transfusionnel toutes les cartes de groupe sanguin du receveur, auxquelles sera substituée une carte de « consignes transfusionnelles » délivrée par l'Établissement français du sang (EFS). En effet, le receveur va acquérir le groupe sanguin de son donneur, mais au terme d'un laps de temps variable. De plus, des processus de rejet de greffe et de reconstitution autologue sont toujours possibles, rendant incertaine l'évolution du groupe sanguin. Par ailleurs, la persistance d'hémolysine chez le patient à la phase précoce de la greffe induit des difficultés d'interprétation.

Parmi les recommandations à prendre en compte durant la transfusion, il faut mentionner celles-ci :

- un antihistaminique est administré avant la greffe ;

- l'infirmière s'assure de la bonne perméabilité de la voie veineuse centrale ;
- la transfusion du PTC, dès les vérifications d'usage effectuées, doit débuter lentement lors des 10 premières minutes, puis être accélérée selon la tolérance, notamment hémodynamique, du produit jusqu'à 15 ml/min : ce temps de passage est ainsi de l'ordre de 30 à 45 minutes pour les CSP, de 45 à 90 minutes pour la moelle osseuse ;
- enfin, il faut éviter d'administrer de manière concomitante toute médication non indispensable.

Après la transfusion, l'infirmière doit demeurer auprès du receveur, afin de surveiller les constantes vitales et assurer la transcription écrite de toute la procédure.

Des effets indésirables sont possibles : fièvre, frissons et urticaire, douleurs lombaires, voire une hypotension ; la présence d'agrégats ou de caillots sur le système de perfusion doit être également signalée au médecin ; une concentration résiduelle de DMSO pour les PTC décongelés peut être à l'origine de réactions d'intolérance. Tout problème doit faire l'objet d'une déclaration au centre de thérapie cellulaire et au responsable de la biovigilance de l'établissement.

Complications immuno-hématologiques liées aux PTC en contexte allogénique

L'hémolyse immunologique immédiate est liée aux hémolysines du receveur vis-à-vis des globules rouges du donneur (incompatibilité ABO « majeure »). La prévention repose sur les processus de désérythrocytation *ex vivo* et le contrôle ultime.

L'hémolyse immunologique retardée est plutôt liée à des anticorps produits par le donneur vis-à-vis des hématies du receveur (incompatibilité ABO « mineure »). Elle s'observe généralement 2 semaines après la greffe et concerne avant tout le groupe ABO, mais a aussi été rapportée avec d'autres systèmes de groupe sanguin. Cette complication rare concerne essentiellement les greffons de CSP, car ils sont plus riches en lymphocytes que les greffons médullaires. Les greffes à conditionnement atténué, ne neutralisant pas immédiatement la production d'hématies autologues, constituent également des situations à risque.

Les PTC de l'avenir en hématologie

L'usage des cellules mésenchymateuses, des cellules embryonnaires, de la plasticité potentielle de certaines cellules souches à se différencier vers un autre tissu que le tissu d'origine constitue autant de perspectives pour le développement de nouveaux PTC en hématologie.

6.3 Greffe de cellules souches d'origine placentaire

Voici plus de 50 ans que les premières greffes de cellules hématopoïétiques ont été réalisées de façon concomitante aux États-Unis et en France. En 1957 a été publiée la première description d'un patient leucémique traité et mis en rémission par une irradiation corporelle totale et par la réinjection de la moelle osseuse provenant de son jumeau homozygote. Depuis, des progrès considérables ont été réalisés et la greffe allogénique est devenue une thérapeutique standard pour beaucoup d'hémopathies malignes et non malignes. Malheureusement, beaucoup de patients nécessitant une greffe n'ont pas de donneur intrafamilial et, malgré 13 millions de donneurs volontaires inscrits sur le fichier mondial, seulement 30-40 % vont y trouver un donneur suffisamment compatible pour voir réaliser la greffe. De plus, la recherche est souvent longue et peut nécessiter des mois, délai trop long pour une maladie d'évolution rapide comme une leucémie aiguë avec une indication de greffe en urgence. Environ un tiers des sujets ne sont pas greffés, parce qu'un donneur n'a pas été trouvé en temps voulu, et que leur état clinique ou le statut de leur maladie s'est détérioré entre-temps. Pour tous ces malades, il existe désormais une alternative de greffe : le recours aux cellules de sang de cordon ombilical comme source de cellules souches hématopoïétiques.

Dans les années 1960, l'idée d'utiliser le sang de cordon ombilical était déjà évoquée pour en tester l'effet thérapeutique chez des patients anémiques atteints de leucémie aiguë. En 1972, un premier rapport sur un « changement de groupe sanguin » après transfusion de multiples sangs de cordon a été publié. Le receveur, un adolescent atteint d'une leucémie aiguë lymphoblastique, avait été transfusé avec des unités de sang de cordon issues de huit donneurs non apparentés différents, sur une période de plusieurs jours, et, bien évidemment à l'époque, sans avoir été testés pour des différences d'histocompatibilité. Ce patient avait présenté temporairement le phénotypage sanguin d'un des sangs de cordon transfusé, montrant ainsi une certaine prise de greffe. On évoqua alors l'intérêt d'exploiter la nature néonatale des cellules dans le sang de cordon pour la reconstitution hématopoïétique.

Dans les années 1980, des investigations et explorations en laboratoire ont montré les propriétés uniques des cellules souches contenues dans le sang de cordon qui, comparées aux cellules souches hématopoïétiques de la moelle osseuse, leur donnent un avantage sélectif de développement : elles sont enrichies en cellules souches hématopoïétiques et progéniteurs qui siègent habituellement dans la moelle osseuse, avec une concentration plus importante et une capacité de prolifération et d'expansion plus forte ; elles sont capables de se renouveler et de peupler à nouveau la moelle osseuse à

long terme, et de produire et maintenir tout au long de la vie des cellules sanguines ; elles peuvent être congelées, stockées et décongelées, sans perdre leurs capacités. Elles présentent enfin des caractéristiques immunologiques uniques. Dans la vie fœtale, les cellules souches apparaissent pour la première fois dans le sac vitellin, puis dans le foie, et finalement dans la moelle osseuse. Chez le fœtus, l'immunité fonctionnelle se développe à l'âge gestationnel de 12 à 14 semaines. À la naissance, le système immunitaire est différent de celui de l'adulte : les lymphocytes T sont plus tolérants, n'ont jamais été exposés à leurs antigènes et ont un phénotype naïf et immature ; ils sont négatifs pour le CD4 et le CD8 ($CD3^+$ $CD4^-$ $CD8^-$), produisent moins de cytokines inflammatoires et ont un répertoire T constitué polyclonal.

Toutes ces données ont créé une base pour aller vers l'application clinique. En 1988, la première greffe de sang de cordon ombilical a été réalisée avec succès chez un enfant atteint d'une maladie rare : l'anémie de Fanconi. Il s'agissait d'une greffe intrafamiliale, dont le groupage HLA était identique à celui de l'enfant. Vingt ans plus tard, le patient se porte très bien. Pour la première fois, il avait été démontré qu'une seule unité de sang placentaire contient suffisamment de cellules souches hématopoïétiques pour assurer une reconstitution hématologique et immunologique. Ce n'était cependant que le début d'une longue aventure, car l'on ne savait si la méthode allait fonctionner de façon générale ou si elle était uniquement réservée à cette maladie particulière, ou seulement s'il y avait une sœur ou un frère HLA-identique identifié avant la naissance. En outre, l'innocuité du prélèvement à la naissance devait être confirmée. Beaucoup de progrès ont été faits depuis et de nombreux travaux ont validé la méthode comme alternative à la greffe de moelle osseuse.

Prélèvement et conservation du sang de cordon ombilical

Le sang de cordon, ou sang placentaire, est le sang qui se trouve dans le placenta et le cordon ombilical, une fois que le bébé est né. Sur le plan technique, le prélèvement se fait par ponction de la veine ombilicale, après clampage du cordon et séparation de l'enfant après à sa naissance, soit lorsque le placenta est encore *in utero*, soit après la délivrance *ex utero* (figure 6.1). Dans les deux cas, le recueil ne comporte aucun danger, ni pour la mère ni pour l'enfant. Le volume prélevé est limité et représente au maximum entre 150 et 220 ml. L'acte est effectué de façon stérile par du personnel spécialisé et formé. Une fois prélevées, les unités de sang placentaires sont expédiées vers des banques spécialisées, où elles sont soumises à des épreuves de contrôles, avant d'y être stockées et cryoconservées dans de l'azote en phase liquide. Ainsi congelées, elles ont une durée de vie théoriquement illimitée. Elles ne peuvent cependant être utilisées qu'après

Figure 6.1. Prélèvement du sang de cordon ombilical après la délivrance du placenta *(ex utero)*.

une période de quarantaine, afin de vérifier l'absence de contamination infectieuse et/ou d'anomalie génétique.

Par rapport à la moelle osseuse, le sang placentaire présente des avantages importants (tableau 6.5) : le greffon est rapidement disponible, ce qui augmente les possibilités de réaliser une greffe dans les plus courts délais. Il a été montré qu'un patient est greffé en moyenne 25 jours plus tôt par rapport à un donneur non apparenté sur fichier. Il existe très peu de risques de transmission d'infections. Un grand avantage des cellules du sang placentaire repose sur leur immaturité, ce caractère permettant d'utiliser des greffons partiellement incompatibles sur le plan HLA avec le patient. Théoriquement, on pourrait élargir la diversité ethnique des mères pour augmenter les possibilités des minorités de trouver un greffon. L'inconvénient le plus important est lié à la quantité beaucoup plus faible de cellules nucléées contenues dans le cordon. Il est également impossible d'utiliser le même donneur une seconde fois, soit pour une seconde greffe, soit pour une injection de lymphocytes du donneur.

Depuis la création des premières banques placentaires en 1993, à New York, Milan et Düsseldorf, des banques de sang placentaire se sont constituées dans le monde entier, permettant la tenue d'un registre et ainsi des échanges nationaux et internationaux. En 1999, la France a mis en place

Tableau 6.5. Avantages et limites des cellules souches hématopoïétiques d'origine placentaire.

Avantages	Limites
Prélèvement sans risque pour l'enfant et la mère Collecte facile Accessible et disponible rapidement Très peu de risques de transmission d'infections Critères de compatibilité HLA moins restrictifs Ressource illimitée Possibilité de disposer des greffons rares pour des minorités ethniques	Impossibilité d'un deuxième don ou d'injection de lymphocytes du donneur Volume limité Risque de transfert d'anomalies génétiques

le Réseau français de sang placentaire (RFSP), sous l'impulsion de l'Agence de biomédecine, le Registre France greffe de moelle et l'Établissement français du sang (EFS). Il était récemment constitué de trois banques actives situées dans les établissements de transfusion de Besançon, Bordeaux et Annemasse. Ouverte en 1995, la banque de Besançon est la plus importante et assure, également avec Bordeaux, les prélèvements en collaboration avec les maternités, les conditionnements des unités de sang placentaire et la réalisation des tests biologiques nécessaires à la validation des greffons. Le centre d'Annemasse assure le stockage à long terme et, depuis 2008, l'hôpital Saint-Louis à Paris procède de nouveau aux prélèvements. D'autres centres de prélèvements sont en cours d'ouverture. Actuellement, presque 7 000 unités de sang placentaire sont conservées en France.

En 1995, le registre international *Eurocord* (*European Research Project on Cord Blood Transplantation*) a été créé pour recueillir les données et analyser les résultats des greffes de sang de cordon ombilical. Puis, en 1998, *Netcord*, bras international des banques d'*Eurocord*, a été créé pour établir des standards de qualité et assurer le bon usage des unités de sang placentaire. Son inventaire comprend actuellement des banques en Europe, aux États-Unis et en Australie, avec un total de plus de 140 000 unités[1].

Aujourd'hui, il existe plus 350 000 unités stockées dans le monde dans 41 banques de sang placentaires internationales, réparties dans 25 pays. Le sang de cordon ombilical est de plus en plus utilisé comme source cellulaire pour la greffe allogénique. En 2008, plus de 8 000 greffes de sang placentaire ont été réalisées sur la planète. Depuis 2004, le Japon est le premier pays à réaliser plus de greffes de sang de cordon ombilical que de greffes de moelle.

1. www.netcord.org

Résultats cliniques de la greffe de sang de cordon ombilical chez l'enfant

Face au succès de la première greffe de sang de cordon, des études chez les enfants atteints de maladies malignes et non malignes ont été réalisées, confirmant la faisabilité en situation apparentée et non apparentée HLA-identique ou partiellement identique. Puis des investigateurs ont comparé les résultats des greffes de sang de cordon non apparentées à ceux des greffes de moelle non apparentées, avec ou sans différences HLA. Globalement, il a été montré que, par rapport à la moelle osseuse, la richesse du greffon, estimée en quantité de cellules nucléées/kg de poids du receveur, est faible, que la reconstitution hématologique est retardée et que l'incidence et la sévérité de la maladie du greffon contre l'hôte (GVH) sont moins importantes. En revanche, la mortalité liée à la greffe, la survie globale et le risque de rechute sont comparables à ceux des greffes de moelle. Récemment, deux études ont présenté les résultats de la greffe de sang de cordon ombilical chez l'enfant atteint de leucémie : une analyse rétrospective des données observées chez 503 enfants de moins de 16 ans, ayant reçu une greffe de sang de cordon ombilical avec 116 receveurs de moelle osseuse, a montré que la survie globale sans maladie, à 5 ans après greffe de sang de cordon ombilical HLA-identique 6/6, était plus élevée et, avec une ou deux différences HLA, comparable à celle après greffe de moelle osseuse HLA-identique 8/8. La mortalité liée à la greffe est plus élevée après greffe de sang de cordon ombilical avec deux différences HLA, et probablement aussi avec une différence et une dose cellulaire faible. Le risque de rechute, en revanche, est moins élevé après deux différences HLA, confirmant l'effet immunologique *Graft versus Leukemia* (GVL) de ce type de greffe. *In fine*, cependant, il n'existe pas de différence, en termes de survie sans maladie, entre les deux types de situation. Une étude prospective incluant 193 enfants atteints de leucémie a indiqué une survie globale à 1 an de 57 % et un risque de rechute de 19 % à 1 an après greffe de sang de cordon ombilical.

Ces travaux ont permis d'identifier deux facteurs importants, déterminants pour la réussite de la greffe : le nombre de cellules nucléées totales dans le greffon et le nombre de différences HLA.

Impact de la richesse du greffon et de la compatibilité HLA

Grâce aux travaux du professeur Dausset et à la découverte du complexe majeur d'histocompatibilité (HLA), les réactions immunologiques qui survenaient après une greffe, notamment le rejet et la GVH, ont été mieux comprises. Le système HLA joue un rôle critique et important en transplantation et représente la clé de l'immunité cellulaire. Globalement, pour

qu'une greffe ait plus de chances de réussir, elle doit être réalisée à partir d'un donneur HLA-compatible. Beaucoup de progrès ont été effectués, ces dernières années, en termes de techniques de typage HLA, permettant aujourd'hui un typage allélique de haute résolution pour les locus HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-DR, HLA-DQ et HLA-DP. La sélection d'un donneur volontaire doit prendre en compte la compatibilité HLA sur dix allèles (A, B, C, DR, DQ), et plus il y a d'incompatibilités entre donneur et receveur, plus le risque de mortalité liée à la greffe augmente. Quant au choix d'une unité de sang placentaire, l'expérience a montré que l'on pouvait s'affranchir d'un tel degré de compatibilité : le standard actuel repose sur un typage sérologique des antigènes de classe I au niveau des locus A et B, et un typage en biologie moléculaire de haute résolution (allélique, 4 digits) sur les antigènes de classe II au niveau du locus DRB1. Ainsi, une compatibilité HLA avec le patient de 6/6, 5/6 et 4/6 identique est acceptée. Jusqu'à présent, le groupage allélique A, B, C, DRB1, DQ n'a pas véritablement montré un avantage et n'est pas considéré pour le choix d'une unité.

Le problème principal limitant l'application du sang de cordon ombilical réside dans le faible nombre des cellules souches hématopoïétiques contenues dans le sang de cordon (environ dix fois moins que dans la moelle) (tableau 6.6), avec une reconstitution hématologique lente et un risque de non-prise de greffe élevé. C'est pour cela que la greffe de sang de cordon a été prioritairement utilisée chez les jeunes enfants. De multiples études ont montré l'impact négatif d'une faible dose cellulaire sur la prise de greffe, la mortalité liée à la greffe et la survie globale. Le groupe *Eurocord* a confirmé l'importance de ces deux facteurs de risque chez 1 204 enfants atteints de maladies malignes et non malignes ayant reçu une greffe de sang de cordon ombilical avec une seule unité. Ces analyses ont montré l'interaction entre la dose cellulaire et le nombre des incompatibilités HLA avec la reconstitution hématologique, la mortalité liée à la greffe, la GVH aiguë et chronique, la rechute et la survie. Dans le groupe avec des maladies malignes, la dose cellulaire était le facteur le plus important pour la

Tableau 6.6. Sources de cellules souches périphériques et nombre de cellules nucléées totales greffées.

	Cellules nucléées totales ($\times 10^8$/kg)	$CD34^+$ ($\times 10^6$/kg)	$CD3^+$ ($\times 10^7$/kg)
Moelle osseuse	2,0	2,8	2,2
Cellules souches hématopoïétiques périphériques	9,0	7,0	27,0
Sang de cordon ombilical	0,17	0,12	0,4

survie. Ainsi, il a été recommandé qu'un seuil minimal de cellules nucléées totales de $3{,}0 \times 10^7$/kg à la collection du sang placentaire devait être atteint, afin d'utiliser l'unité pour la greffe. Le même groupe a également montré l'influence négative des nombres de différences HLA sur la prise de greffe. Cependant, des incompatibilités HLA ont un effet bénéfique sur la rechute en situation de maladie maligne, prouvant ainsi un effet antitumoral (effet greffon contre la maladie).

Des travaux du *New York Blood Center* ont aussi montré un impact négatif du nombre des différences HLA sur la prise de greffe, la GVH, la mortalité liée à la greffe et la survie sans maladie, indépendamment de la dose cellulaire. Il n'a été trouvé aucune influence de la dose cellulaire après greffe avec des unités de sang placentaires HLA identique 6/6, ce qui permet de conclure que la compatibilité HLA pourrait compenser une dose cellulaire très faible. Globalement, ceci implique, selon les auteurs, que plus une unité présente de différences HLA, plus élevée devrait être la dose cellulaire pour assurer le succès de la greffe.

Greffe de sang de cordon ombilical chez l'adulte

Devant les résultats positifs et encourageants chez l'enfant, il s'est rapidement posé la question de la place de la greffe de sang de cordon ombilical chez l'adulte. Les problèmes principaux étaient liés à la faible dose cellulaire par rapport au poids du receveur et à la difficulté de trouver une unité de sang placentaire suffisamment riche pour réaliser la greffe chez l'adulte d'un poids moyen de 75 kg. Depuis les premiers rapports, en 1996, des études rétrospectives chez des adultes plutôt jeunes, avec principalement des pathologies myéloïdes à haut risque et après un conditionnement intensif (myéloablatif), ont montré qu'il existe une prise de greffe et une incidence de GVH aiguë acceptable, malgré les limitations de la dose cellulaire et l'utilisation fréquente de greffons avec des différences HLA. En comparaison avec les greffes de moelle osseuse et de cellules souches hématopoïétiques périphériques, les résultats après greffe de sang de cordon ombilical ne sont pas statistiquement différents en termes de GVH, de rechute et de survie globale. En revanche, la non-prise et surtout la mortalité liée à la greffe présentaient un obstacle majeur, atteignant presque 50 % dans cette population adulte à risque.

Pour s'affranchir de la barrière du petit volume du greffon et améliorer la reconstitution hématologique et la prise de la greffe, les efforts se sont concentrés sur des stratégies permettant d'abord d'augmenter le nombre de cellules souches contenues dans le sang placentaire, en tentant de les amplifier en laboratoire grâce à des cocktails de cytokines. D'autres méthodes

visent à faciliter la prise ; plusieurs approches cliniques sont à l'étude : la co-injection de cellules souches haplo-identiques pour permettre, par une prise transitoire du greffon haplo, d'attendre la vraie prise du sang de cordon ombilical, de cellules souches mésenchymateuses ou l'injection intramédullaire du sang placentaire.

La plus prometteuse des études actuelles, et peut-être la plus simple, est la transplantation de deux unités de sang placentaire. Ses bases ont été créées dès les années 1970, en transfusant de multiples sangs de cordon à des patients atteints de leucémie. Cette approche était révolutionnaire et, sur le plan immunologique, imprévisible en termes de rejet, de GVH et de prise de greffe : deux cordons différents, très souvent partiellement compatibles avec le patient et entre eux-mêmes ! En 2005, ont été publiés les résultats d'une première série de patients atteints de leucémie aiguë et ayant reçu deux sangs placentaires partiellement HLA-compatibles, après un conditionnement myéloablatif alourdi par le rajout d'un agent immunosuppresseur supplémentaire, la fludarabine. Cette étude a montré la faisabilité en termes de reconstitution hématologique : il n'y avait aucune non-prise de greffe, malgré l'incompatibilité HLA, l'incidence de la GVH aiguë sévère était faible (13 %) et la mortalité liée à la greffe acceptable (22 %). La mise à jour des données, en 2007, a montré une survie sans maladie et une survie globale à 3 ans respectivement de 54 et 59 %, ce qui est plus élevé en comparaison des contrôles historiques de simple greffe de sang de cordon. Il est à noter que la prise de greffe à terme était issue d'un seul cordon. Il n'existe pas de facteurs pronostiques identifiés pour prédire l'unité gagnante. Il est présumé, de façon probablement simpliste, qu'après transfusion de deux unités de sang placentaire, il se déroule des mécanismes immunologiques (effet greffon *versus* greffon) où une unité va être rejetée par l'autre, après avoir facilité la prise de greffe. De plus, il semble exister un effet antitumoral plus puissant par rapport à la greffe avec une seule unité de sang placentaire. Les données d'une série de patients atteints de leucémie aiguë et greffés avec une ou deux unités de sang placentaire, après un conditionnement myéloablatif, ont montré que le risque de rechute est significativement réduit après double greffe de cordon chez des sujets en première ou deuxième rémission complète par rapport à la simple greffe de cordon (11 % *versus* 54 %). Les raisons en sont inconnues, mais il est possible que des effets immunologiques additifs augmentent l'effet antitumoral.

Une autre stratégie pour améliorer les résultats chez des adultes est de réduire la toxicité de la procédure, en appliquant un conditionnement non myéloablatif ou dit « à intensité réduite ». Ceci a été développé, à la fin des années 1990, sur la base que l'effet antitumoral de la greffe est essentiellement lié à l'immunothérapie délivrée par le greffon et que l'intensité du conditionnement est associée à une plus grande toxicité. Le conditionnement à intensité réduite permet une application de la greffe

à une population plus large, plus âgée, parfois lourdement prétraitée, et présentant souvent des comorbidités contre-indiquant un conditionnement myéloablatif. Toutefois, classiquement, le greffon, dans ce type de greffe, est un greffon riche en cellules souches hématopoïétiques, issu d'un prélèvement sanguin périphérique par cytaphérèse après stimulation par facteurs de croissance. Par rapport au sang de cordon qui est pauvre en cellules souches hématopoïétiques et présente de surcroît des disparités HLA, le problème majeur est lié au grand risque de non-prise de greffe. En 2003 a été démontrée la faisabilité des greffes de sang de cordon ombilical après conditionnement non myéloablatif en termes de prise de greffe. La même équipe, qui a également observé une forte association entre l'exposition à un traitement par chimiothérapie et la prise de greffe, a récemment publié une mise à jour de son expérience utilisant fludarabine, cyclophosphamide et une irradiation corporelle totale de faible dose, avec une prophylaxie de la GVH par ciclosporine (CSA) et myophénolate-mofétil (MMF), avec essentiellement des greffes de double sang de cordon ombilical. L'analyse a montré une survie globale à 3 ans de 45 % chez 110 adultes, avec des hémopathies malignes à risque élevé. La survie sans progression et la mortalité liée à la greffe à 3 ans étaient respectivement de 38 et 26 %. Fait notable, la survie sans progression était plus élevée chez les receveurs de double greffe de sang placentaire (39 %) par comparaison avec le simple greffon (24 %). Les auteurs ont également établi que la présence de comorbidités est un facteur déterminant pour la réussite de la greffe de sang de cordon ombilical après conditionnement non myéloablatif, avec une survie globale à 3 ans de 8 % *versus* 56 % selon la présence ou non de comorbidités importantes. En revanche, l'âge comme seul facteur pronostique n'avait pas d'influence négative sur la survie et la mortalité liées à la greffe.

Un conditionnement non myéloablatif, associant fludarabine, melphalan et sérum antilymphocytaire avant la greffe de double sang de cordon ombilical chez des adultes atteints d'hémopathie maligne, a donné des résultats très prometteurs, avec une survie sans maladie à 1 an et une mortalité liée à la greffe précoce (J + 100) respectivement de 67 % et 14 %. Ces résultats et d'autres confirment que la greffe de sang de cordon ombilical après conditionnement non myéloablatif est une option pour les patients non éligibles pour un conditionnement myéloablatif, ainsi qu'une stratégie élargissant la possibilité de greffe à une population plus large, plus âgée.

Perspectives

Les complications infectieuses représentent l'une des causes majeures de morbidité et de mortalité après greffe de sang de cordon ombilical. Le traitement de support et prophylactique maximaliste joue un rôle crucial, surtout dans les premiers mois post-allogreffe. La recherche sur l'identification

des patients à plus haut risque et surtout le développement de stratégies visant à améliorer la reconstitution immune sont une priorité. Des efforts pour améliorer la reconstitution hématologique et combattre la toxicité liée à la greffe doivent être poursuivis avec des stratégies pré- et post-allogreffe adaptées à chaque patient, à sa maladie et à sa situation clinique, par des modifications du choix du conditionnement, de la prophylaxie de la GVH et de la modulation de l'immunothérapie après la greffe. La transplantation de plusieurs unités de sang placentaire, l'injection intraosseuse, l'expansion *ex vivo*, l'injection simultanée des cellules haplo-identiques déplétées en lymphocytes T ou des cellules mésenchymateuses, nécessitent des explorations approfondies. Des études sur l'impact d'un typage HLA plus affiné sont à conduire, notamment dans les doubles greffes de sang de cordon et après conditionnement non myéloablatif pour mieux choisir un greffon.

Longtemps, le sang de cordon ombilical a été considéré comme un déchet biologique et a été détruit. Aujourd'hui, 20 ans après la première greffe de sang de cordon, il apparaît très précieux, car il peut sauver des vies. À ce jour, plus de 20 000 greffes de sang de cordon ont été réalisées dans le monde, et ce chiffre est en augmentation constante.

La greffe de sang de cordon est devenue une alternative thérapeutique à la greffe de moelle osseuse pour beaucoup de patients, en l'absence d'un donneur volontaire. Le choix de sélection d'une unité de sang placentaire repose sur la richesse du greffon, exprimée en quantité de cellules nucléées totales et sur la compatibilité HLA. En dehors de la disponibilité rapide, un greffon avec deux unités de sang placentaires peut être identifié pour la majorité des patients. Il est une option attractive pour traiter des adultes non éligibles pour une simple greffe de sang de cordon en raison des limitations de dose cellulaire. Le conditionnement non myéloablatif représente une option importante pour réduire la toxicité, en élargissant en même temps le champ des receveurs potentiels. Dans le futur, nous devrons être capables d'avoir recours au greffon le plus adapté au patient et d'offrir une greffe de cellules souches hématopoïétiques à chaque patient le nécessitant.

7 Biotechnologies et transfusion sanguine

Depuis des décennies, la presse nationale et internationale évoque la notion de « sang artificiel » et les scientifiques mènent des actions pour le développement de substituts des différents composants du sang. En effet, le sang humain est un ensemble si complexe qu'en l'état actuel des connaissances, un substitut unique ne paraît pas envisageable. Les recherches actuelles ayant pour objectif la production des différents constituants du sang humain, le champ d'application est immense, avec plus de cinq types de cellules et plus de cent types de protéines.

Les biotechnologies permettent de produire des éléments cellulaires ou protéiques *in vitro*, c'est-à-dire au laboratoire, voire dans des unités industrielles, mais chaque programme de recherche-développement-production se traduit par la production d'un seul composant, ce qui permet de mesurer la distance entre les recherches actuelles et la mise au point d'un véritable « sang artificiel ».

Substituts cellulaires

Globules rouges

Les substituts en cours d'étude sont, d'une part, des dérivés de fluorocarbures, d'autre part, l'hémoglobine d'extraction ou de recombinaison.

Les applications des émulsions de fluorocarbures sont encore très limitées du fait de leur toxicité et de leur faible stabilité. Les études sur l'hémoglobine d'extraction évoluent, mais les applications paraissent très réduites. Les recherches sur l'hémoglobine recombinante ne permettent pas d'entrevoir d'issue pratique à moyen terme, en raison du coût de la fabrication. Elles se heurtent aux difficultés de compréhension des mécanismes d'oxydation de l'atome de fer de l'hème, aux problèmes de mise au point de systèmes d'expression susceptibles de produire les grandes quantités nécessaires aux besoins, et à l'optimisation de procédés de purification assurant l'innocuité du produit final. Une perspective utilisant un ver marin a fait l'objet d'un dépôt de brevet.

En dépit de nombreux travaux, aucun substitut du globule rouge ne s'impose encore comme transporteur d'oxygène. Néanmoins, de nombreux essais cliniques de transfusion d'hémoglobine ont été réalisés. L'hémoglobine-di-aspirine a été testée mais les résultats sont décevants. Dans l'état actuel, ces hémoglobines n'apparaissent pas comme un substitut possible de la

© 2015 Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

transfusion de globules rouges : tous les essais cliniques sont actuellement arrêtés.

Dans le domaine des biotechnologies, les indications de l'érythropoïétine peuvent encore évoluer en vue de permettre une économie des besoins en érythrocytes. C'est dire que le recours aux dons de sang humain sera encore une nécessité absolue dans la prochaine décennie.

À la frontière des substituts cellulaires et de la thérapie cellulaire, une nouvelle technologie apparaît : la production *ex vivo* de globules rouges. En effet, il est actuellement possible de produire, en laboratoire, des globules rouges par amplification et différenciation des cellules souches hématopoïétiques présentes dans le sang de cordon, dans la moelle osseuse, ou mobilisées dans le sang périphérique. Cette technique permet l'obtention de globules rouges matures et fonctionnels. Pour que cette possibilité devienne réalité pratique, il faut optimiser le système afin de produire à grande échelle. Une des premières applications de cette technique serait la production de globules rouges de phénotypes rares (obtenus à partir des cellules souches du patient).

Plaquettes

Les tentatives de remplacer les plaquettes, soit par des microsphères d'albumine recouvertes par du fibrinogène, soit par des globules rouges autologues contenant des glycoprotéines plaquettaires GpIIb/IIIa, ont des effets hémostatiques chez l'animal, mais ces éléments se trouvent éliminés en quelques minutes chez l'homme. La thrombopoiétine et son dérivé le MDGF, ainsi que des molécules chimiques stimulent la production de plaquettes, mais ces traitements ne se substituent pas aux transfusions de plaquettes.

Substituts protéiques

Albumine

Les essais de production d'albumine humaine par voie biotechnologique sont développés depuis 1986. Les difficultés sont liées à plusieurs facteurs :

- la structure relativement complexe de la molécule, qui inclut 17 ponts disulfures ;
- le prix unitaire très faible, comparé au prix des autres protéines recombinantes ;
- les quantités à produire ;
- l'obtention d'une solution pure.

Facteur VIII

Le facteur VIII de recombinaison génétique est déjà validé et présent sur le marché depuis 1993. Trois problèmes persistent cependant : les indications — en particulier pour les hémophiles jamais transfusés et pour

les hémophiles déjà transfusés par des dérivés plasmatiques humains —, l'incidence à long terme des anticorps anti-facteur VIII induits, les capacités et difficultés matérielles de production. La meilleure connaissance du polymorphisme du facteur VIII a conduit à des essais d'immunomodulation pour éviter la formation d'anticorps anti-facteur VIII.

Facteur IX

Le développement clinique du facteur IX recombinant s'est tout d'abord heurté à des problèmes fondamentaux de glycosylation et de stabilité. Depuis, les essais cliniques ont montré l'efficacité du produit recombinant qui est désormais utilisé à large échelle et qui a démontré son efficacité biologique.

Immunoglobulines

Les recherches concernant les immunoglobulines spécifiques évoluent favorablement sur le plan méthodologique (génie cellulaire, recombinaison). Les essais cliniques démontrent que la fonctionnalité de ces anticorps n'est pas toujours satisfaisante, tel l'anti-Rh (D) dans la maladie hémolytique du nouveau-né. En revanche, les substituts des immunoglobulines polyvalentes ne sont pas actuellement envisageables, du fait de la diversité des spécificités et de la connaissance très imparfaite de leurs mécanismes d'action. Les anticorps monoclonaux humanisés sont utilisés en thérapeutique humaine dans des indications spécifiques: prévention de la resténose coronaire, lymphopathie, maladies inflammatoires.

Cytokines

La production des cellules sanguines, ainsi que leur différenciation et leur comportement sont liés à diverses substances, elles-mêmes produites par d'autres cellules, comme les globules blancs. De nombreuses cytokines sont identifiées et connues sur le plan moléculaire : le gène est isolé et la protéine peut être produite grâce aux développements des biotechnologies industrielles.

Groupes de cytokines

Les cytokines peuvent être classées en quatre groupes :

- les cytokines ou facteurs de croissance directement actifs sur l'hématopoïèse, dont certains ont un impact transfusionnel direct ou indirect. Deux ont une place particulière : l'érythropoïétine et la thrombopoïétine. L'érythropoïétine, facteur de croissance de la lignée rouge, est désormais utilisée dans les anémies de l'insuffisance rénale et des processus cancéreux, ainsi que dans les programmes d'autotransfusion. La thrombopoietine et les facteurs de croissance plaquettaire font l'objet d'un paragraphe spécifique.

Le Granulocyte colony stimulating factor (G-CSF) est le plus utilisé pour la leucopénie post chimiothérapie ;

- les cytokines agissant sur la croissance et la différenciation de tissus extra-hématopoïétiques : certaines peuvent être produites par les cellules sanguines, telles que le *Platelet-Derived Growth Factor* (PDGF) présent dans les plaquettes. Les Fibroblast Growth factor (FGF) ont des activités similaires sur la migration et la croissance cellulaire ;
- les cytokines impliquées dans le fonctionnement du système immunitaire, comme les interleukines et les interférons : les interleukines sont en jeu dans le fonctionnement du système immunitaire, comme l'interleukine 2 (facteur de croissance des lymphocytes T), l'interleukine 4 (facteur de croissance des lymphocytes B) ; les interférons sont une classe de molécules très proches dont trois types ont été caractérisés : les interférons α sont synthétisés par les globules blancs infectés par un virus (il en existe une vingtaine) ; les interférons β sont produits par de nombreuses cellules de l'organisme lorsqu'elles sont infectées par un virus (il en existe deux sous-types) ; l'interféron γ est produit par certains leucocytes dans le cadre d'une réaction immunitaire. Les interférons sont utilisés dans le traitement de nombreuses formes de cancers, leucémies et hépatites. Le produit thérapeutique est obtenu par recombinaison génétique ;
- les cytokines qui agissent sur les phénomènes de migration et d'attirance des cellules, que l'on nomme chimiokines.

Utilisation des cytokines en médecine transfusionnelle

Érythropoïétine

L'érythropoïétine (EPO) est le premier facteur de croissance à avoir été isolé. Le gène de l'EPO est localisé sur le bras long du chromosome 7 et induit la production d'une glycoprotéine de 34 kDa, dont la demi-vie plasmatique est de 6 à 9 heures. L'EPO est synthétisée par les cellules rénales péritubulaires interstitielles. La fixation sur son récepteur stimule la prolifération et la différenciation des cellules de la lignée érythroïde.

Chez l'insuffisant rénal, l'anémie étant principalement liée à un taux bas d'EPO, l'administration d'EPO recombinante, associée à un traitement martial, permet, dans un délai d'environ 2 mois, la suppression des transfusions. Cependant, les essais cliniques mettent en lumière les effets indésirables liés à l'administration d'EPO : hypertension, accidents vasculaires et accidents thrombotiques. Il ne faudrait pas observer un taux trop élevé d'anticorps neutralisants.

L'EPO a été utilisée dans le cadre de la transfusion autologue programmée (TAP, en particulier dans la chirurgie orthopédique ou cardiovasculaire) et en période péri-opératoire.

Granulocyte Colony Stimulating Factor

Le *Granulocyte Colony Stimulating Factor* (G-CSF) stimule la croissance et la différenciation des cellules de la lignée neutrophiles. Il est largement prescrit et a peu d'effets secondaires aux doses thérapeutiques. Il est inclus dans des protocoles thérapeutiques associés aux chimiothérapies myélosuppressives chez les patients atteints de tumeurs solides et de diverses pathologies hématologiques malignes. Son administration fait partie de certains protocoles de transplantation médullaire pour réduire la durée de la période cytopénique et, partant, le risque infectieux.

Le G-CSF est utilisé pour mobiliser les cellules souches circulantes et en permettre le recueil par cytaphérèse dans le contexte des autogreffes de moelle osseuse.

Thrombopoïétine et facteurs stimulant la thrombopoïèse

La première génération de facteurs thrombopoïétiques comprend la thrombopoïétine humaine recombinante (RhTPO), efficace chez le singe et chez l'homme, mais dont la structure et la pharmacocinétique ont limité le développement. Le *Megakaryocyte Growth and Differentiation Factor* (MGDF) a induit la production d'anticorps limitant, voire bloquant l'action de la thrombopoïétine endogène, ce qui a pu provoquer des thrombopénies parfois sévères. Une protéine de fusion, l'interleukine 3-thrombopoïétine, a fait l'objet de quelques essais cliniques, mais l'arrivée des facteurs de deuxième génération a limité son usage. Les facteurs thrombopoïétiques de deuxième génération ont été, logiquement, des molécules analogues à la thrombopoïétine sous forme de peptide capable de se fixer sur le récepteur mégacaryocytaire et de stimuler la production de plaquettes. Diverses molécules de synthèse (AMG 531, Peg-TPOmp) apparues sur le marché du médicament sont des produits utilisables par voie injectable (en sous-cutanée), comme le romiplostim. Des molécules synthétiques ligands du récepteur de la thrombopoïétine et administrables par voie orale ont été mises au point, et leur mise sur le marché est intervenue en 2010, avec extension en 2014. D'autres molécules ayant des propriétés thrombopoïétiques sont à l'étude (anticorps stimulant le récepteur du TPO, mini-anticorps, peptides dérivés des anticorps).

Aux indications initiales des facteurs stimulant dans les thrombopénies post-chimiothérapie ou radiothérapie, il faut ajouter le purpura thrombopénique auto-immun. Le concept de thrombopénie périphérique résultant de la destruction des plaquettes a été ébranlé par les résultats obtenus par l'administration des facteurs thrombopoïétiques. En effet, les formes injectables ou orales de facteurs thrombopoïétiques induisent une augmentation significative des plaquettes à des valeurs supérieures à 50 G par litre, voire une normalisation du taux. L'efficacité d'une telle thérapeutique est étonnante et n'est que partiellement expliquée (synthèse endogène

Tableau 7.1. Principales catégories de produits issus des biotechnologies.

Types	Exemples
Molécule clonale de remplacement	Facteur VIII, facteur IX et anti-RhD
Activation clonale de cellules sanguines	Érythropoïétine
Molécules de croissance et différenciation	Granuleux, comme le G-CSF pour neutrophiles

de TPO insuffisante, compensation de la thrombopoïèse limitée par des anticorps antimégacaryocytaires). L'utilisation de tels médicaments sur un long terme reste certes à évaluer, mais les premiers résultats sont spectaculaires. Le tableau 7.1 résume les principales catégories de produits issus des biotechnologies.

8 Qualité, maîtrise des risques et évaluation de la chaîne transfusionnelle

En l'absence d'alternative technologique actuellement crédible, l'utilisation de produits sanguins labiles (PSL) demeure la base autour de laquelle s'organise toute une chaîne de prestations successives, dont la défaillance de l'un des maillons, qu'elle soit d'origine humaine, technique ou organisationnelle, peut compromettre l'efficacité. Car l'activité transfusionnelle constitue l'exemple même d'un système complexe où interagissent, de façon continue, des contraintes singulières (liées aux donneurs ou aux malades), des organisations et des pratiques dans un contexte d'exigences fortes, de nature scientifique, technique et sociétale.

Un enjeu majeur en matière de sécurité des soins et d'image des organisations de santé

La maîtrise d'un système complexe implique un mode de management adapté. Dans les organisations de santé, l'un des leviers de ce management repose sur une combinaison de démarches qualité, de gestion des risques et d'évaluation des pratiques professionnelles. Elles ont pour enjeu la maîtrise de divers aspects des prestations, tels que le caractère approprié (ou pertinence), l'acceptabilité, l'accessibilité, la continuité, la délivrance au bon moment, la sécurité, l'efficacité (ou l'atteinte des objectifs), l'efficience (ou l'atteinte des objectifs au meilleur coût). La mise en œuvre de ces démarches, qu'elles répondent à une obligation (politiques publiques, réglementation, contrôles de qualité, inspection) ou à un choix institutionnel (démarches de reconnaissance externe de la qualité), repose nécessairement sur une approche intégrée et systémique, classiquement portée par quatre dimensions liées entre elles :

- la *dimension stratégique* concerne l'ancrage durable de la démarche dans la vie de l'institution (politique formalisée, actualisée et connue de tous, objectifs clairement définis, implication de la « direction » au sens large du terme, garanties apportées, notamment en termes de ressources nécessaires et de soutien institutionnel aux projets, implication des professionnels, suivi et évaluation des résultats, communication associée) ;

© 2015 Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

- la *dimension culturelle* comprend la compréhension partagée du sens, des objectifs et des méthodes, le développement d'une culture de sécurité (en particulier quant à l'approche positive de l'erreur) et de la mesure ; posture de l'encadrement, communication et formation en constituent les leviers essentiels ;
- la *dimension structurelle* comprend l'organisation (structure de pilotage et de coordination, composantes opérationnelles) et les ressources dédiées (soutien méthodologique en matière d'initiation, de suivi, d'évaluation et de documentation des projets, temps utilisé par les acteurs de terrain pour les contributions et le travail en réseau) ;
- la *dimension technique* concerne les méthodes et outils (conduite de projet, système d'information, méthodes d'identification et d'analyse des processus critiques, de résolution de problèmes, de mise en œuvre de solutions, de mesure et de pérennisation des résultats, système documentaire).

Ces quatre dimensions constituent la base des référentiels d'évaluation du management de la qualité et de gestion des risques actuellement mis en œuvre. L'insuffisante prise en compte d'une ou de plusieurs d'entre elles aboutit à des situations fragiles, voire à des échecs. On peut ainsi observer des démarches qualifiées de « marginale » (par défaillance de soutien stratégique), « spécialisée » (par défaut d'actions favorisant une appropriation réelle par l'ensemble des professionnels), « désorganisée » (par insuffisance de capacité à organiser une démarche transversale et/ou une allocation des ressources adaptées), ou encore « frustrante » (par insuffisance de maîtrise des méthodes et outils).

Ainsi comprise, la démarche qualité-gestion des risques constitue un levier de management essentiel dont les enjeux sont multiples :

- capacité d'une organisation complexe à maîtriser les exigences opposables (réglementaires, normatives et professionnelles, qu'elles portent sur les organisations, les techniques, les produits, l'éthique ou la déontologie), ainsi que leur mise en œuvre dans le temps et dans l'espace ;
- capacité à prouver un niveau de prestation garanti, en réponse aux attentes des usagers (donneurs et patients), des « clients internes » du système (professionnels en attente d'une prestation leur permettant à leur tour d'agir de façon adaptée), du législateur, des organismes externes en charge de l'inspection ou de l'évaluation, des assurances, voire des médias ;
- capacité à maîtriser les risques relatifs aux personnes (accueil des usagers, risques associés aux soins, sécurité du personnel), aux biens, à l'environnement, au fonctionnement (système d'information, achats, finances, contrats, etc.), sans oublier le risque résiduel (veille, identification, financement) ;
- impact de la démarche sur la gestion des ressources humaines (professionnels mieux formés sur la base de processus et de compétences adaptées mieux définis) ;

- réduction des coûts de la non-qualité (coûts financiers, voire humains, liés à la survenue de dysfonctionnements), cette dernière, une fois identifiée, devenant le moteur de la démarche dite d'amélioration continue de la qualité.
- enjeu d'image, enfin.

Des repères pour comprendre le fonctionnement de la chaîne transfusionnelle

La chaîne transfusionnelle peut être abordée selon plusieurs logiques (figure 8.1) :
- selon les institutions concernées : établissement de transfusion sanguine (ETS) d'une part, établissement de santé d'autre part ;
- selon une approche fonctionnelle : processus général depuis la définition du besoin en PSL jusqu'à la transfusion du malade et son suivi ;
- selon les activités : dites de premier rang pour le prélèvement des donneurs et les soins directs donnés aux malades, ou de second rang pour la préparation et la qualification des PSL d'une part, l'activité de délivrance des PSL en ETS ou établissement de santé d'autre part, sans parler des activités périphériques essentielles relatives aux ressources humaines, aux achats et à la logistique, à la maintenance des bâtiments et matériels, à la gestion du système d'information, etc.

On voit ainsi la complexité de cette activité (nombreux processus et sous-processus, nombreuses interfaces, nombreux acteurs), complexité aux risques potentiels non négligeables, d'autant que la réglementation opposable et les logiques d'intervention sont spécifiques aux deux catégories d'institutions (tableau 8.1). La question de la cohérence, de l'optimisation et de la régulation de cette chaîne constitue ainsi un aspect essentiel du management public (tableau 8.2).

La maîtrise de l'ensemble de la chaîne passe dès lors par l'analyse homogène et le suivi systématique des différents processus, essentiellement quant aux éléments susceptibles de compromettre la qualité du résultat (principe en figure 8.2). À cet égard, il convient de rappeler ici cinq mécanismes de coordination des organisations (ajustement mutuel, supervision directe, standardisation des compétences, standardisation des procédés, standardisation des résultats) pour souligner les limites des régulations fondées sur la seule logique procédurale. L'équilibre à trouver « ici et maintenant » entre ces mécanismes doit prendre en compte autant les exigences que le contexte, les qualifications disponibles et le savoir-faire des organisations.

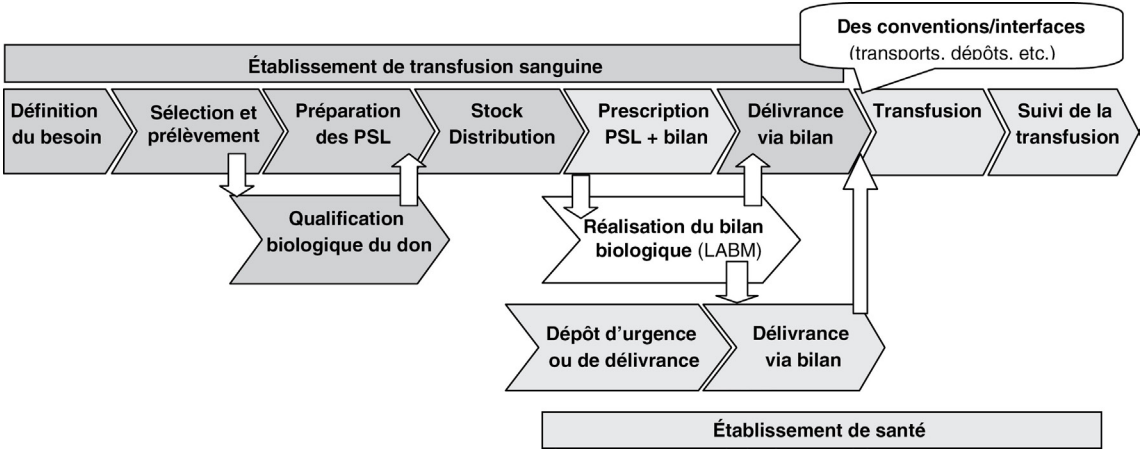


Figure 8.1. Les grandes étapes de la chaîne transfusionnelle.

Tableau 8.1. Repères réglementaires ou incitatifs spécifiques relatifs à la qualité et la gestion des risques.

1991-1996	Obligation d'évaluation de la qualité des soins (1991/ES) et de démarche qualité (1992/ETS) Création d'un système transfusionnel unifié/bonnes pratiques transfusionnelles (1993/ETS) Mise en œuvre de l'hémovigilance (1994/ES et ETS) Guide de bonne exécution des analyses de biologie médicale (GBEA V1 ; 1994/ETS et ES) Programme d'amélioration de la qualité (1995 et 1996 : appels à projets auprès des hôpitaux) Obligation de certification des établissements de santé publics et privés (1996/ES)
1997-2002	Création d'un opérateur national unique pour la transfusion (1998/ETS) Mise en œuvre de la première procédure de certification, comportant un référentiel transfusionnel (1998/ES) Guide de bonne exécution des analyses de biologie médicale (GBEA V2 ; 1999/ETS et ES) Complément au GBEA relatif aux examens d'immuno-hématologie (2002/ETS et ES)
2003-2010	Obligation d'évaluation des pratiques professionnelles faite aux médecins (2004/ETS et ES) Deuxième procédure de certification, comportant un référentiel transfusionnel (2005/ES) Expérimentation d'indicateurs relatifs à la sécurité des soins (2007 et 2008/ES) Troisième procédure de certification : extension des obligations en matière de gestion des risques associés aux soins, d'évaluation des pratiques professionnelles et d'indicateurs relatifs à la qualité des soins (2010-2011/ES) Obligation de mise en œuvre de l'accréditation des LABM selon la norme ISO 15189 (2010/ETS et ES) Renforcement des exigences en matière de sécurité de soins (2010 et 2011/ES) Mise en œuvre du développement professionnel continu (2011/ETS et ES ?)

ES, établissement de santé ; GBEA, guide de bonne exécution des analyses de biologie médicale ; LABM, laboratoire de biologie médicale ; V, version.

Tableau 8.2. Modes de régulation spécifiques aux établissements de transfusion sanguine et établissements publics de santé.

	En établissements de transfusion sanguine	En établissement public de santé
Production	Concentrée (production de PSL et activités associées, stockage, délivrance de PSL, conseil et biologie associés) Pas ou peu de transfusion sanguine	Diversifiée (singularité des malades, variété des contextes cliniques, complexité des soins et des technologies associées, multiplicité des intervenants et métiers, etc.) Assure l'essentiel des transfusions sanguines

▷

▷

	En établissements de transfusion sanguine	En établissement public de santé
Contexte	Stable (deux opérateurs nationaux, Établissement français du sang et Centre de transfusion sanguine des armées, double organisation, hiérarchisée verticale et thématique horizontale) Culture de management en développement	Instable (fréquence des réformes, pression budgétaire, contexte bureaucratique, relations humaines complexes, culture de management inégalement partagée) Un système d'hémovigilance souvent très engagé (démarche qualité-gestion des risques ancienne, souvent plus avancée que dans beaucoup d'autres secteurs du soin)
Référentiel	Réglementation (caractéristiques des PSL, bonnes pratiques, hémovigilance, GBEA) Normes d'adoption volontaire (ISO 9001, 17025, EFI) ou obligatoire (ISO 15189) Procédures ETS (nationales, régionales et locales)	Réglementation (acte transfusionnel, dépôts de sang, etc.). Recommandations de pratique clinique (SFAR, ANSM-HAS) Normes sectorielles d'adoption volontaire (JACIE) ou obligatoire (ISO 15189) Manuel de certification des établissements de santé Niveau inégal en procédures formalisées (secteurs normés, vigilances, anesthésie, autres)
Régulation interne	Démarche qualité (procédures, audits et suivi d'indicateurs, revues de direction)	Démarche qualité-gestion des risques de développement inégale Évaluation des pratiques professionnelles
Régulation externe	Contrôle de qualité des PSL Inspections diligentées par l'ANSM Certification ISO 9001 Accréditation de laboratoires (COFRAC)	Procédure de certification HAS Accréditation de laboratoires (COFRAC) ou d'activité médico-technique (JACIE) Classement des établissements
Cohérence réglementaire et fonctionnelle assurée pour l'ensemble de la chaîne transfusionnelle au moyen du réseau d'hémovigilance (avec ses trois niveaux : local, régional et national)		

ANSM, Agence nationale de sécurité du médicament (anciennement Afssaps) ; COFRAC, Comité français d'accréditation ; EFI, *European Foundation for immunogenetics* ; HAS, Haute Autorité de Santé ; SFAR, Société française d'anesthésie-réanimation ; ISO, Organisation de normalisation internationale (Genève) ; JACIE, *Joint Accreditation Committee of International Society for Cellular Therapy and European Bone Marrow Transplantation*.

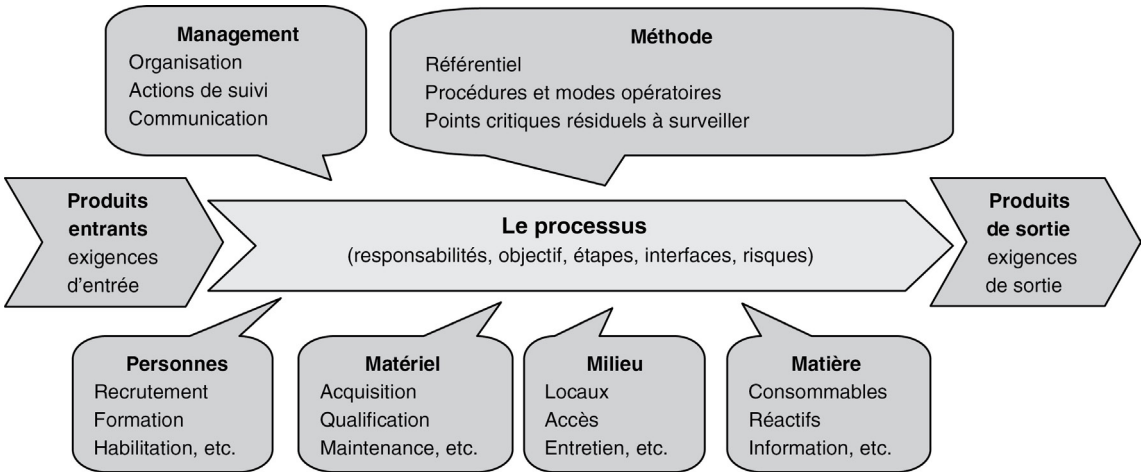


Figure 8.2. Principes d'identification et d'analyse des composants pour la maîtrise d'un processus.

Aperçu des concepts sous-jacents à la démarche qualité-gestion des risques

Aborder les concepts est nécessaire à la bonne compréhension de la démarche, sous réserve d'adapter le discours au contexte et à son niveau de développement. Une synthèse des principaux repères est proposée dans le tableau 8.3. Reposant sur des exigences introduites plus récemment dans le champ des soins en établissements de santé, la démarche de gestion des risques doit être intégrée (et non superposée) aux démarches qualité déjà existantes. Points de convergence et spécificités méthodologiques sont à connaître (tableau 8.4), notamment quant aux principaux concepts sous-jacents à la sécurité des soins (tableau 8.5).

Tableau 8.3. Vingt termes ou expressions nécessaires à la compréhension d'une démarche qualité-gestion des risques.

Termes	Explicitation
1. Qualité	Ensemble des caractéristiques d'une entité (produit, service) lui conférant l'aptitude à satisfaire des exigences (autrement dit « le bon produit et/ou le bon service, au bon moment, au bon endroit, pour la bonne personne, au meilleur coût »). Ces caractéristiques peuvent être de nature diverse (physique, comportementale, temporelle, fonctionnelle, ergonomique, etc.). Dans le domaine médical, c'est l'adéquation entre les moyens, les compétences et les méthodes mis en œuvre pour atteindre au mieux le résultat attendu (informations de diagnostic, rémission des symptômes, prévention d'une pathologie, etc.). Un questionnement de type « quoi, qui, avec qui, quand, où, comment, avec quoi, pourquoi, combien » (QQOQCP) favorise la description et la compréhension d'une situation dont on souhaite préciser les exigences de qualité. Dans le domaine de la santé, la qualité d'une prestation peut être analysée selon huit dimensions (rendu des résultats d'examens biologiques par exemple) : caractère approprié, acceptabilité, accessibilité, continuité, délivrance au bon moment, sécurité, efficacité (ou l'atteinte des objectifs), efficience (ou l'atteinte des objectifs au meilleur coût).
2. Spécification	On ne peut parler de qualité sans mesure. L'expression précédente relative « au bon produit et/ou au bon service, au bon moment, au bon endroit, pour la bonne personne, au meilleur coût » n'a de sens que spécifiée, c'est-à-dire traduite en données mesurables. Ces données peuvent être imposées par la réglementation (composition d'un concentré érythrocytaire, par exemple), par une norme (exigence issue de la norme ISO 15189) ou par consensus, issu alors du contexte local ou du milieu professionnel (recommandation de pratiques transfusionnelles).

▷

Termes	Explicitation
3. Processus	Une approche concrète de la qualité et des risques réside dans l'analyse des processus. Le processus est défini comme l'ensemble des étapes d'une organisation ou d'une pratique nécessaires à la réalisation d'un objectif (montage d'une machine d'aphérèse ou prélèvement d'un donneur de sang, par exemple). Le degré de description d'un processus (quoi, qui, avec quoi) dépend de l'enjeu en termes de qualité et de sécurité attendues, une décomposition très fine en processus élémentaires pouvant être nécessaire pour des pratiques jugées critiques pour la qualité de la prestation (ne pas confondre processus et procédure, cette dernière décrivant la manière de réaliser le processus). Au terme d'une étude de pertinence, la maîtrise d'un processus recomposé doit reposer sur les points suivants : – le responsable, les limites, les clients, les fournisseurs, les acteurs et les interfaces sont identifiées ; – les besoins du client sont connus ; – des indicateurs permettent (si besoin) de mesurer la satisfaction des clients ; – les risques de défaillance sont évalués ; – les risques résiduels sont couverts par vérification ou contrôle le plus en amont possible, le processus est décrit (en tant que de besoin) dans des documents de référence ; – les éléments de preuve sont archivés et utilisables pour donner confiance ; – les dispositions sont connues et appliquées par les acteurs ; – les défaillances sont traitées en curatif et en préventif ; – l'efficacité des processus (ou atteinte des objectifs) est évaluée.
4. Relation client-fournisseur	Le concept de « client » définit le bénéficiaire d'une étape (destinataire final d'un processus, ou professionnel de l'étape d'aval). La prestation du « fournisseur » doit être adaptée aux contraintes et attentes du « client » (qualité de l'information médicale prétransfusionnelle fournie à un patient et/ou à son entourage).
5. Étude de pertinence d'un processus	Une fois le processus décrit, l'étude de pertinence est engagée sur la base des données disponibles (besoins du « client », dysfonctionnements éventuels) et du système de référence (objectifs de la direction, réglementation, recommandations professionnelles, exigences normatives). Les écarts identifiés devront donner lieu à la reconstruction d'un processus adapté avec plan d'action, formation des opérateurs et suivi des résultats en conséquence.
6. Cartographie des processus	Représentation très générale des principaux processus (prestations, fonctions dites support, pilotage) destinée à favoriser la compréhension d'un secteur d'activité.

Termes	Explicitation
7. Approche produit- système	La démarche qualité prend en compte les processus de travail (approche « produit »). La généralisation de la démarche et le besoin de maîtrise des nombreuses interfaces impliquent rapidement la mise en œuvre de mécanismes assurant la coordination et le suivi des projets, l'évaluation des résultats, la traçabilité des actions menées, etc. (approche « système ») *Cf.* système de management qualité-gestion des risques.
8. Types de démarches qualité	Plusieurs types de démarches sont apparus au fil du temps (inspection finale des productions, contrôle qualité, assurance qualité, amélioration continue de la qualité, management par la qualité totale). La plupart des référentiels actuels combinent un pilotage par l'exigence normative (registre de l'assurance qualité) et par les résultats (registre de l'amélioration continue de la qualité).
9. Contrôle qualité	Approche de la qualité issue des années 1920-1930 (faisant suite à l'inspection, axée sur la recherche finale d'anomalies), fondée sur la mesure d'une production effectuée sur la base d'exigences spécifiées (cf. spécification) et le niveau de qualité acceptable. Il s'applique à des activités porteuses d'enjeux forts, que ce soit en fin, au cours ou en début de production (contrôle de certains consommables à réception, vérification d'un matériel avant utilisation, préparation des PSL, vérification des échantillons biologiques reçus au laboratoire, résultats biologiques, prescriptions transfusionnelles, etc.). Le constat d'une anomalie ou d'une série d'anomalies (suivi statistique) permet alors d'agir sur les causes.
10. Assurance qualité	Approche de la qualité issue des années 1950-1960 (début de la mondialisation des échanges) fondée sur la norme. L'objectif est de garantir un niveau constant de qualité grâce à une organisation spécifique et des processus de production définis depuis la conception. L'approche est ici préventive (donner confiance, maîtriser les coûts de la non-qualité), fondée sur les procédures, l'audit de leur mise en œuvre et les plans d'action.
11. Améliora-tion continue de la qualité	Approche de la qualité issue des années 1960-1970, fondée sur une approche collective et participative, centrée sur les résultats et processus en cause. Illustré par la « roue de Deming », le principe utilisé repose sur une suite d'étapes (constats et mesure, décision d'action, analyse et recherche de solutions adaptées, mise en œuvre de la solution retenue, mesure des résultats et pérennisation).

Termes	Explicitation
12. Manage-ment par la qualité totale	Approche de la qualité issue des années 1970-1990, étendant la démarche à toute l'institution, prenant en compte l'ensemble des « parties prenantes », non seulement ses « clients », mais aussi les professionnels, les financeurs et l'environnement proche dans laquelle l'institution agit.
13. Système de management qualité et gestion des risques	La maîtrise d'une démarche qualité-gestion des risques repose sur une politique formalisée, un engagement effectif de la direction (programmes, allocation de ressources adaptées, revues périodiques du système) et un système de management. Celui-ci repose sur les piliers suivants : – organisation (instance décisionnelle, cellule qualité-risque, correspondants locaux) ; – veille relative aux exigences diverses à prendre en compte ; – système d'information ; – système de formation des personnels ; – démarche combinant l'approche par les processus (cartographie, descriptions des processus et sous-processus essentiels, identification et analyse des points critiques et défaillances potentielles), un système de gestion des non-conformités (notification d'une part, actions préventives, correctrices et curatives d'autre part), un système d'évaluation (contrôles de qualité, audit, indicateurs) et de suivi (traçabilités diverses, revue des résultats), un système permettant la maîtrise des documents (manuel qualité, procédures, modes opératoires, documents d'enregistrement, voire documents remis aux usagers). Ces éléments constituent l'essentiel des référentiels de type ISO 9001, ISO 15189, ISO 17025.
14. Audit qualité	Examen méthodique, indépendant et documenté d'une organisation ou d'une pratique permettant de déterminer si des exigences préétablies sont satisfaites, si ces dispositions sont mises en œuvre de façon efficace et si elles sont aptes à atteindre les objectifs. Il est utilisable en gestion des risques, ces principes pouvant être déclinés selon les secteurs et la nature des activités concernées (ici audit qualité, là audit clinique, là encore visite de risques). Point clé de la démarche d'amélioration continue de la qualité/sécurité (bien faire, ne pas nuire) et de l'assurance de qualité/sécurité (apporter la preuve de ce qui est maîtrisé), l'audit est un levier de progrès collectif (distinct de l'inspection avec laquelle il ne saurait être confondu).

Termes	Explicitation
15. Indicateur qualité	Définition : donnée objective et quantifiée dont l'exploitation permet de faire le point par rapport à un objectif prédéterminé. Différents types d'indicateurs : de structure (moyens et ressources utilisés), de processus (activités au service d'un objectif), de résultat (atteinte des objectifs fixés), de satisfaction (niveau de qualité perçue), sentinelle (déclenche systématiquement une analyse des causes et une action corrective rapide). Les caractéristiques d'un indicateur qualité : repose sur un fait, mesure un écart par rapport à une situation définie comme satisfaisante, pertinente (en lien avec l'objectif), simple et facile à comprendre, liée à l'attente des clients, facile à mesurer, attribuable à un fournisseur identifiable, choisie et suivie collectivement par les gens concernés au sein de tableaux de bord, permettant la décision, sensible aux actions d'amélioration. Le suivi de l'indicateur : peut être fait dans le temps (une même mesure répétée à intervalle périodique pour une entité donnée) et dans l'espace (comparaison entre entités comparables à un même moment).
16. Traçabilité	Concerne la capacité à retrouver l'historique, la mise en œuvre ou l'emplacement de ce qui est examiné (cas d'un PSL déjà distribué, que l'on souhaite neutraliser après information post-don), d'où l'importance des enregistrements dans divers champs (achats, prélèvement des donneurs, préparation des PSL, étalonnage des matériels, etc.).
17. Reconnais-sance externe de la qualité	La reconnaissance de la qualité d'une démarche institutionnelle peut faire appel à un organisme externe. Le registre peut être celui de la certification (définie comme la conformité à un référentiel, ISO 9001-2008 en ETS par exemple) ou de l'accréditation (reconnaissance de compétence effectuée par des paires, biologistes dans le cadre de l'accréditation d'un laboratoire selon les normes ISO 15189 ou EFI).
18. Manage-ment du risque	Activités coordonnées dans le but de diriger et piloter un organisme vis-à-vis du risque (ISO 31000).
19. Processus de management du risque	Application systématique de politiques, procédures et pratiques de management aux activités de communication, de concertation, d'établissement du contexte, ainsi qu'aux activités d'identification, d'analyse, d'évaluation, de traitement, de surveillance et de revue des risques (ISO 31000).
20. Politique qualité-gestion des risques	Déclaration des intentions et des orientations générales d'un organisme en relation avec le management de la qualité et des risques (ISO 31000).

Tableau 8.4. Temps successifs d'une démarche de gestion des risques.

Étapes		Méthodes et outils adaptés aux établissements de transfusion sanguine et établissements de santé
1	**Structurer une démarche collective**	
	Par l'instauration d'une démarche institutionnelle (par exemple, en termes de culture de sécurité et d'une approche positive et non punitive de l'erreur)	
	Par l'organisation systématique des actions de prévention ou de gestion d'un événement indésirable (programmes et projets, information et formation associées)	Modalités d'organisation et de suivi des programmes Fiche projet
2	**Identifier les risques existants (en distinguant le risque subi et la prise volontaire de risque)**	
	Gestion des risques dite *a posteriori* : en organisant la remontée d'informations (diverses sources via le recueil des plaintes, la notification des événements indésirables, l'écoute des patients et du personnel) en sélectionnant les événements à analyser en recherchant les causes des événements, en analysant les barrières de sécurité en se positionnant dans le cadre des indicateurs nationaux disponibles (*benchmarking* ou étalonnage comparatif)	Techniques de recueil des données Analyse de processus Méthode ALARM ou arbre des causes Revue de morbidité-mortalité Gestion de crise
	Gestion des risques dite *a priori* : en organisant l'écoute du patient comme source d'information en effectuant une analyse de processus et des barrières de sécurité en surveillant un processus critique par indicateur(s) et tableau de bord en effectuant un état des lieux par comparaison à un référentiel validé en anticipant les situations de crise potentielle	Analyse de processus AMDE/AMDEC Audit qualité Audit clinique
3	**Évaluer et hiérarchiser les risques**	
	Au moyen d'une cartographie destinée à éclairer la prise de décision et programmer les actions à mener	Diagramme de Farmer

▷

Étapes		Méthodes et outils adaptés aux établissements de transfusion sanguine et établissements de santé
4	**Traiter les risques**	
	Par des actions préventives et/ou correctives (en agissant sur la fréquence et/ou la gravité)	Plan d'action en réduction des risques Méthodes de résolution de problèmes Chemin clinique, aide-mémoire et check-lists
	Par des actions préventives organisant la détection précoce du risque	
5	**Suivre les risques et capitaliser**	
	En mesurant les résultats obtenus, en corrigeant si besoin, en s'assurant de la pérennité des résultats	Audit qualité Indicateur
	En évaluant et suivant les risques résiduels	
	En valorisant les résultats obtenus et en capitalisant les connaissances acquises	Gestion du retour d'expérience
	En développant la culture de sécurité	
	En améliorant le système de gestion des risques	

Tableau 8.5. Notions clés nécessaires à l'organisation de la sécurité des soins.

Défense en profondeur	Mécanisme intégré, combinant un ensemble de barrières de sécurité judicieusement définies, permettant de limiter la production ou la propagation des défaillances d'un système.
Barrières de sécurité	Mécanismes destinés à prévenir la réalisation d'un événement indésirable. Ils peuvent être à type de prévention (mesure visant à réduire la fréquence d'un risque) et/ou de protection (mesure visant à réduire la gravité d'un risque). Exemples relatifs aux défenses du processus transfusionnel : – seconde détermination de groupe sanguin effectuée de façon indépendante de la première ; – délivrance du produit au vu de deux cartes de groupe concordantes ; – vérification d'identité lors de tout prélèvement biologique, puis lors de tout soin ; – contrôle ultime de concordance d'identité entre patient, PSL à transfuser et documents associés ; – contrôle ultime de compatibilité du patient et de chacun des CGR à transfuser ; – surveillance immédiate du patient après pose de la transfusion. L'ensemble de ces barrières participe d'un système dit de « défense en profondeur », ayant une fonction de prévention d'erreur, d'autres de récupération d'erreur, d'autres enfin d'atténuation des effets face à un accident constitué. Un système de sécurité performant est en général « multidéfendu » par plusieurs barrières de prévention et de récupération, un système sûr reposant davantage sur des barrières organisationnelles que sur des barrières techniques.

Causes immédiates et causes profondes d'un incident ou accident lié aux soins	Les défaillances patentes (erreurs, déviance, absence de barrières de sécurité) sont volontiers favorisées par des défaillances latentes (conditions favorisant les erreurs ou la déviance, processus organisationnels, décisions ou absence de décisions managériales). Apprendre de ses erreurs et conduire le retour d'expérience destiné à améliorer le système de gestion des risques implique donc une analyse approfondie des événements indésirables, qui doit être menée dans des conditions techniques et humaines adaptées.
Situation à risque	Situation non souhaitée ayant des conséquences négatives résultant de la survenue d'un ou plusieurs événements dont l'occurrence est incertaine. Son analyse comprend successivement l'identification de(s) : – l'événement redouté (exemple : retard transfusionnel) ; – conséquences ; – causes ; – barrières de sécurité, à type de prévention (comment éviter la survenue de l'événement redouté), de récupération (comment détecter, comprendre et agir face à un dysfonctionnement pouvant conduire à l'événement), voire d'atténuation des effets.
Accident	Situation ayant entraîné un dommage, éventuellement mortel, chez une personne, notamment un malade dans le cadre d'un processus de soins (ou événement indésirable grave).
Incident	Situation susceptible d'entraîner un dommage, éventuellement chez un patient, ayant fait l'objet d'une récupération avant dommage. Une analyse approfondie doit permettre de comprendre la chronologie de l'événement, les modalités de la récupération dans ses différents temps (alerte, diagnostic, mesure corrective) et leurs modalités (qui, quand, comment). Les enseignements issus de l'analyse permettront l'amélioration du dispositif de soins concerné.
Retour d'expérience	Organisation visant à tirer des enseignements des incidents ou accidents pour éviter leur répétition.

Mise en œuvre au sein des laboratoires d'analyse de biologie médicale

Plusieurs étapes marquent l'évolution de la qualité au sein des laboratoires d'analyse de biologie médicale (LABM), maillon essentiel du processus transfusionnel.

Les bonnes pratiques de laboratoire issues de la profession font place en 1994 (première version), puis en 1999 (seconde version), au *Guide de bonne exécution des analyses de biologie médicale* (GBEA), diffusé sous la forme d'arrêtés. Celui-ci précise des règles générales en matière d'organisation, de fonctionnement, de moyens, d'exécution des analyses, de responsabilité en fait de surveillance et d'animation de la qualité, d'obligation d'évaluation externe de la qualité effectuée sur une base comparative interlaboratoires (tableau 8.6).

Tableau 8.6. Les grandes lignes du GBEA.

I	Introduction (Objet ; Glossaire)
II	Règles de fonctionnement (Organisation ; Installation ; Instrumentation ; Matériels et réactifs ; Informatique)
III	Exécution des analyses (Procédures et modes opératoires ; Prélèvement, identification et conservation des échantillons biologiques ; Validation des résultats ; Expression des résultats et comptes rendus d'analyse ; Transmission des résultats)
IV	Cas particuliers (Examens de laboratoire destinés aux recherches biomédicales ; Examens utilisant des techniques de biologie moléculaire)
V	Assurance qualité (Responsabilité de la personne chargée de l'assurance qualité ; Évaluation externe de la qualité ; Contrôle de qualité interne)
VI	Stockage et conservation des archives
Annexe A	Règles d'organisation et de fonctionnement (Autorisation ; Comptes rendus et signature ; Locaux ; Équipement ; Personnel ; Transmission des prélèvements aux fins d'analyse ; Tarifs applicables)
Annexe B	Fiche de suivi médical
Annexe C	Cas particulier des bonnes pratiques de laboratoires en immuno-hématologie érythrocytaire : – Champ d'application – Règles de réalisation des analyses : groupages ABO-RH1 (RhD) ; phénotypage RH-KEL (Rh-K) ; phénotypage étendu ; recherche d'anticorps antiérythrocytaires (RAI) ; titrage des anticorps antiérythrocytaires immuns autres que les anti-A et anti-B et le dosage pondéral des anti-RH ; épreuve directe de compatibilité au laboratoire ; test direct à l'anti-globine – Contrôle de qualité interne (CQI) – Automation, Informatisation – Carte de groupe sanguin
Annexe D	Bonnes pratiques de laboratoires en immuno-hématologie érythrocytaire : – D I : Champs d'application – D II à D VIII : Validation des résultats et gestion des anomalies – D IX : Automation et informatisation – D X : Traitement et identification des échantillons ; Gestion des réactifs, du support réactionnel, de la phase de préparation-distribution ; Traitement de la lecture des réactions ; Traitement et exploitation des informations ; Validation biologique – D XI : Sécurisation du transfert des données immuno-hématologiques vers le service de distribution

L'arrêté du 26 novembre 1999 comprend les chapitres I à VI, ainsi que les annexes A et B. Celui du 26 avril 2002, modifiant l'arrêté du 26 novembre 1999, comprend les annexes C et D.

L'intérêt de ce texte a été de définir les concepts et points clés de la qualité, dans une activité caractérisée tant par son aspect scientifique que par celui d'une production à caractère économique. Il est applicable à tout laboratoire intervenant sur la chaîne transfusionnelle, en ETS, en établissement de santé ou en laboratoire « de ville ». S'il ne s'applique pas aux laboratoires à caractère de recherche ou d'épidémiologie, il fixe toutefois des règles concernant la qualité des protocoles de recherche biomédicale mettant en jeu la sécurité des patients (essais cliniques pharmaceutiques avant autorisation de mise sur le marché). L'enjeu majeur lié à la fiabilité des groupages sanguins amène à compléter ce texte d'un nouvel arrêté diffusé en 2002 (tableau 8.6).

Une nouvelle réglementation est précisée par l'ordonnance 2010-49 du 13 janvier 2010 relative à la biologie médicale, l'arrêté du 17 octobre 2012, définissant les conditions justificatives de l'entrée effective d'un laboratoire de biologie médicale dans une démarche d'accréditation et la loi 2013-442 du 30 mai 2013 portant réforme de la biologie médicale. À la visite d'agrément pour exercer et à la vérification aléatoire de la mise en œuvre du GBEA au sein des LABM qui relevait jusque-là de l'Inspection de la pharmacie issue des anciennes directions régionales des affaires sanitaires et sociales (DRASS), la loi substitue l'obligation d'accréditation confiée à un organisme indépendant, tant de l'opérateur que de l'administration. Cet organisme, dit de « tierce partie », désigné et qualifié par l'État, est le Comité français d'accréditation (COFRAC). Il évalue, selon une fréquence préétablie et contractuelle, que :

- le système d'assurance qualité du LBM est effectivement conforme aux exigences réglementaires, mais également aux exigences de la norme d'assurance qualité en laboratoire de biologie médiale NF EN ISO 15189 ;
- les techniques et les moyens analytiques employés sont capables de produire des résultats fiables et reproductibles en respectant « l'état de l'art » et des protocoles de validation scientifique.

Si sa prestation est contractualisée avec le laboratoire, c'est l'instance nationale d'accréditation qui est destinataire du rapport d'évaluation afin de prononcer la décision d'accréditation du laboratoire, celle-ci conditionnant l'autorisation administrative.

Comme le GBEA, la norme NF EN ISO 15189 définit des exigences « système » (c'est-à-dire des éléments de politiques, de responsabilités et de management de la qualité au sein du laboratoire) et des exigences « techniques » (portant plus précisément sur la manière d'assurer la fiabilité des processus pré-analytique, analytique et postanalytique) (tableau 8.7).

Le cas de figure le plus courant consiste à amener un LABM appliquant le GBEA au niveau des exigences de la norme ISO 15189. Les écarts quant aux exigences supplémentaires à satisfaire sont identifiables au moyen du tableau 8.8. (Les arrêtés relatifs au GBEA seront abrogés en novembre 2016, date à partir de laquelle aucun LABM ne pourra exercer sans accréditation.)

Tableau 8.7. Les grandes lignes de la norme NF EN ISO 15189 (2007).

Introduction **1.** Domaine d'application ; **2.** Références normatives ; **3.** Termes et définitions	
4. Exigences relatives au management : – Organisation et management – Système de management de la qualité – Maîtrise des documents – Revue des contrats – Analyses transmises à des laboratoires sous-traitants – Services externes et approvisionnement – Prestation de conseils – Traitement des réclamations – Identification et maîtrise de non-conformités – Actions correctives – Actions préventives – Amélioration continue – Enregistrements qualité et enregistrements techniques – Audits internes – Revue de direction	**5.** Exigences techniques : – Personnel – Locaux et conditions environnementales – Matériel de laboratoire – Procédures pré-analytiques – Procédures analytiques – Assurer la qualité des procédures analytiques – Procédures post-analytiques – Compte rendu des résultats

L'accréditation est ainsi une démarche constituant une véritable opportunité pour le laboratoire. Elle est l'occasion de repenser et d'optimiser l'organisation, les flux de travail et les gestes techniques. Tant les prestations vis-à-vis des clients que le management du laboratoire sont questionnés à cette occasion. Elle ouvre de nombreux chantiers de réflexion et de formalisation, qu'il convient de conduire sur un « mode projet ». Il est recommandé de :

- réaliser un diagnostic de départ, idéalement par un consultant spécialisé, afin d'appréhender les éléments suffisants et ceux à compléter, en évaluant approximativement la charge de travail ;
- détailler la démarche en groupes de travail thématiques inspirés des thèmes de la norme (tableaux 8.7 et 8.8) ;
- planifier le travail des groupes sous forme de calendrier de réalisation ;
- réaliser des revues régulières des chantiers par la direction du laboratoire qui s'assurera de l'avancement et assurera les arbitrages nécessaires ;
- nommer éventuellement un « chef de projet » ou responsable qualité, qui assumera la cohérence d'ensemble et réalisera la remontée d'informations utiles vers la direction.

La démarche doit être considérée comme un investissement : le temps passé et les éventuelles ressources matérielles apportées généreront une fiabilité et une économie de fonctionnement optimisée. Les principaux

Tableau 8.8. Comparaison des exigences du GBEA et de la norme NF EN ISO 15189.

	GBEA	NF EN ISO 15189
Management de la qualité	Assurance qualité (partielle, évaluation insuffisante) Système qualité (partiel) Procédures, responsabilités, compétences	Système de management de la qualité : engagement de la direction politique qualité et objectifs écoute client et identification des besoins responsabilités définies pour tout le personnel évaluation permanente (audits, indicateurs) amélioration continue (gestion des événements indésirables, non-conformités et réclamations) système documentaire complet (avec manuel qualité) compétences et habilitations
Gestion du personnel	Organigramme Qualification et diplômes Formation Procédures et GBEA disponibles et appliqués	Politique de ressources humaines Définitions de fonction (qualification, responsabilités) Responsabilités de la direction du laboratoire Formation spécifique à l'assurance qualité Évaluation régulière des compétences Organigramme Dossiers du personnel et diplômes Programme de formation continue Enregistrement des formations
Phase pré-analytique	Prescription et fiche de suivi Manuel d'instructions pour prélèvement, étiquetage, manipulation et transport des échantillons Enregistrement Critères d'acceptation et de rejet des échantillons Étiquetage des aliquots Conservation pour vérification ultérieure	Procédure pour les urgences Procédure pour les prescriptions orales Feuille de prescription (ou équivalent électronique) Manuel d'instructions pour prélèvement, étiquetage, et manipulation des échantillons Respect des conditions de transport Enregistrement Critères d'acceptation et de rejet des échantillons Traçabilité des aliquots Conservation pour vérification ultérieure

▷

	GBEA	NF EN ISO 15189
Phase analytique	Procédures et modes opératoires détaillés, validés Réactifs conformes (marquage CE) utilisés dans le respect des préconisations du fabricant Contrôle de qualité interne (évaluation externe de la qualité) Validation analytique	Intervalles de référence biologique revus Évaluation des performances, enregistrement, validation annuelle de la méthode, incertitude de mesure (discussion avec COFRAC et marquage CE) Procédures analytiques adaptées aux besoins, basées sur des recommandations d'experts Documents en français, disponibles sur poste de travail Contrôle de qualité interne Évaluation externe de la qualité Validation analytique
Métrologie et validation	Appareils inspectés, nettoyés, entretenus et vérifiés (dont surveillance de température des enceintes, qualification métrologique des systèmes analytiques, pipettes, balances) Fiches de vie pour le matériel	Environnement (surveillance et enregistrement) Raccordement aux étalons Matériels analytiques et informatiques conformes aux spécifications, capables d'atteindre les performances requises (notice CE) à l'installation et en cours d'utilisation Fiches de vie pour le matériel
Phase post-analytique	Validation par un biologiste (de tous les comptes rendus, même en cas de logiciel d'aide) Procédures de transmission des résultats (en situation normale, en urgence, cas particuliers, résultats partiels) Comptes rendus de résultats Conservation des échantillons Respect de la confidentialité	Délais d'obtention des résultats et format des comptes rendus des résultats définis en concertation avec le médecin Validation biologique effectuée par personne habilitée Procédure de transmission des résultats (en situation normale, en urgence, provisoires) Comptes rendus de résultats Conservation des échantillons Respect de la confidentialité

risques d'échec sont déductibles des points précédents. La démarche d'accréditation échouera si la direction du laboratoire n'est pas suffisamment engagée, exemplaire et soucieuse de l'avancement, ou si elle n'associe pas suffisamment les personnels à la réflexion, notamment pour tout ce qui touche aux gestes pratiques, aux postes de travail et aux flux de travail, ou encore si elle est conduite sans ressources, ni temps de travail dégagé en réflexion et en animation.

Mise en œuvre dans un établissement de transfusion sanguine

Production, contexte, référentiels, modes de régulation interne et externe ont été précisés (tableau 8.2), ainsi que les évolutions en cours en LABM (point 4). Deux référentiels majeurs et complémentaires doivent être évoqués dans leurs grandes lignes : d'une part les bonnes pratiques transfusionnelles (décision du 6 novembre 2006 définissant les principes de bonnes pratiques prévus à l'article L. 1223-3 du Code de la santé publique, *Journal officiel* du 10 novembre 2006), relevant de la réglementation (tableau 8.9), d'autre part la norme NF EN ISO 9001 relevant d'un choix institutionnel (tableau 8.10).

Tableau 8.9. Grandes lignes des bonnes pratiques transfusionnelles (2006).

Périmètre	EFS, CTSA, établissements de santé (conservation, distribution, délivrance)
Tronc commun	Principe des bonnes pratiques Glossaire Système de management de la qualité (objectifs, analyse et maîtrise des processus, audits, gestion des non-conformités, des actions correctives et préventives, système documentaire, consommables critiques et évaluation des fournisseurs concernés, dérogations, libération des produits, gestion des réclamations, rappel des produits) Contrôle de la qualité (champs, organisation, gestion des résultats) Personnel (principes généraux, formation, hygiène et sécurité) Locaux (principes généraux, zones) Matériel (liste, qualification, suivi des contrôles de qualité, carnet de vie, mode d'emploi, fonctionnement en mode dégradé, nettoyage, matériel de mesure, gestion du matériel défectueux) Documentation (principes de gestion, archivage, règles de conservation)
Lignes directrices spécifiques	Collecte de sang homologue (accueil et information des donneurs, identification du donneur et du don, sélection des donneurs, prélèvement et surveillance, collation, information post-don, circuit des prélèvements réalisés, comptes rendus d'activité) Protocole de transfusion autologue (inclusion, prélèvement, préparation, qualification biologique, qui fait quoi entre ETS et établissement de santé en distribution et délivrance) Préparation des PSL (locaux, préparation, conservation, contrôles) Qualification biologique du don (personnel, locaux, automation et informatisation, gestion des échantillons, analyses biologiques, traçabilité) Délivrance (personnel, locaux, modalités de délivrance, cas particuliers, contrôle et remise des PSL), distribution (personnel, locaux, modalités de distribution), conseil transfusionnel, contrôle et gestion des PSL (stocks, retours, rappel, confirmation de la transfusion sanguine) Systèmes d'information (personnels, fournisseurs, maintenance, locaux, équipements, sûreté de fonctionnement, validation, archivage des données)

Tableau 8.10. Grandes lignes de la norme NF EN ISO 9001 (2008).

1. **Domaine d'application**	Doit démontrer son aptitude à fournir régulièrement un produit conforme Viser à accroître la satisfaction des clients
2. **Réformes normatives**	
3. **Termes et définitions**	
4. **Système de management de la qualité (SMQ)**	*4.1. Exigences générales pour les processus* (*y compris externalisés*) : Déterminer les processus, leur séquence et interaction Déterminer les critères et les méthodes pour assurer l'efficacité et la maîtrise Assurer la disponibilité des ressources et des informations Surveiller, mesurer et analyser Mettre en œuvre les actions (résultats planifiés, amélioration continue)
	4.2. Exigences relatives à la documentation : Généralités : expression documentée de la politique et des objectifs ; manuel qualité ; procédures et enregistrements exigés par la norme ; documents nécessaires à l'établissement Manuel qualité : établi et tenu à jour (avec domaine d'application, procédures ou référence à celles-ci et description des interactions entre processus) Maîtrise des documents (une procédure) : – approbation, révision, mise à jour, modifications et statut de la version identifiés, disponibilité, lisibilité et identification – identification des documents extérieurs jugés nécessaires au fonctionnement du SMQ et maîtrise de leur diffusion – empêcher l'utilisation de documents obsolètes Maîtrise des enregistrements (les enregistrements établis doivent être maîtrisés). Une procédure : – définir les contrôles nécessaires associés à l'identification, au stockage, à la protection, à l'accessibilité, à la conservation et à l'élimination des enregistrements – les enregistrements doivent rester lisibles, faciles à identifier et accessibles
5. **Responsabilité de la direction**	*5.1 Engagement de la direction :* Communiquer l'importance à satisfaire les exigences des clients, les exigences réglementaires et légales Établir la politique qualité Assurer que des objectifs qualité sont établis Assurer la disponibilité des ressources

▷

	5.2 Écoute client : assurer que les exigences des clients sont déterminées et satisfaites
	5.3 Politique qualité : adaptée. Elle comprend l'engagement et fournit un cadre pour les objectifs qualité. Communiquée et comprise. Revue
	5.4 Planification : Objectifs qualité établis aux fonctions et niveaux appropriés. Mesurables et cohérents avec la politique Planification du SMQ. Cohérence maintenue quand modifications du SMQ sont planifiées et mises en œuvre
	5.5 Responsabilité, autorité et communication : Responsabilité et autorité définies et communiquées Représentant de la direction nommé. À la responsabilité et l'autorité, en particulier pour : – assurer que les processus nécessaires au SMQ sont établis, mis en œuvre et entretenus – rendre compte à la direction du fonctionnement et de tout besoin d'amélioration – assurer que la sensibilisation aux exigences du client est encouragée – Communication interne : – des processus appropriés de communication sont établis – la communication concernant l'efficacité du SMQ a bien lieu
	5.6. Revue de direction : À intervalles planifiés. Revoit le SMQ pour vérifier qu'il demeure pertinent, adéquat et efficace. Évalue les opportunités d'amélioration. Évalue les besoins de modification du SMQ, y compris la politique qualité et les objectifs qualité Des éléments d'entrée et éléments de sortie imposés (informations, décisions et actions)
6. **Management des ressources**	*6.1. Mise à disposition des ressources :* déterminer et fournir les ressources pour mettre en œuvre et entretenir le SMQ, améliorer en permanence son efficacité, accroître la satisfaction des clients en respectant leurs exigences

	6.2. Ressources humaines : Le personnel effectuant un travail ayant une incidence sur la conformité aux exigences relatives au produit est compétent sur la base de la formation initiale et professionnelle, du savoir-faire et de l'expérience Compétence, formation et sensibilisation : déterminer les compétences, pourvoir à la formation (ou autres actions), évaluer l'efficacité des actions entreprises, assurer que le personnel a conscience de la pertinence et de l'importance de leurs activités (conserver les enregistrements), formation initiale, professionnelle, et savoir-faire
	6.3. Infrastructures nécessaires pour obtenir la conformité du produit (bâtiments, équipements, services supports)
	6.4. Environnement de travail n*écessaire pour obtenir la conformité du produit*
7. **Réalisation du produit**	*7.1. Planification de la réalisation du produit :* planifier et développer les processus nécessaires à la réalisation du produit (selon le cas : objectifs, documents, ressources, vérification, validation)
	7.2. Processus relatifs aux clients : Exigences relatives au produit (spécifiées par le client, non formulées mais nécessaires, exigences réglementaires et légales applicables, toutes exigences complémentaires) Revue des exigences relatives au produit : – revoir les exigences relatives au produit (avant de s'engager à livrer un produit). Les exigences relatives au produit sont définies. Tout écart est résolu. L'établissement est apte à satisfaire aux exigences définies – si exigences non documentées : doivent être confirmées par l'établissement avant d'être acceptées – si modification : documents correspondants amendés et personnel concerné informé Communication avec les clients : dispositions efficaces pour communiquer (informations, traitement des consultations, contrats, commandes, avenants, retour d'informations, réclamations)
	7.3. Conception et développement : 1. planification, 2. éléments d'entrée, 3. éléments de sortie, 4. revue, 5. vérification, 6. validation, 7. maîtrise des modifications

	7.4. Achats : Processus d'achat : assurer que le produit acheté est conforme. La maîtrise appliquée au fournisseur et au produit acheté dépend de l'incidence du produit. Évaluer et sélectionner les fournisseurs. Établir les critères de sélection, d'évaluation et de réévaluation Informations relatives aux achats. Décrire le produit à acheter Vérification du produit acheté : établir et mettre en œuvre le contrôle ou autres activités nécessaires pour assurer que le produit acheté satisfait aux exigences d'achat spécifiées (si vérifications chez le fournisseur : à préciser dans infos d'achats)
	7.5. Production et préparation du service : Maîtrise de la production et de la préparation du service. Planifier et réaliser les activités de production et de préparation dans des conditions maîtrisées (informations, instructions de travail, équipements) Validation des processus de production et de préparation du service. Valider si éléments de sortie surveillés ou mesurés *a posteriori*. Démontrer l'aptitude à réaliser les résultats planifiés Identification et traçabilité. Identifier le produit si approprié. Identifier l'état du produit par rapports aux exigences de surveillance et de mesure tout au long de la réalisation du produit. Quand la traçabilité est une exigence, maîtriser l'identification unique et conserver les enregistrements Propriété du client. Identifier, vérifier, protéger et sauvegarder la propriété que le client a fournie pour être utilisée ou incorporée dans le produit. Si la propriété du client est perdue, endommagée ou jugée impropre, le notifier au client (enregistrements à conserver) Préservation du produit. Préserver la conformité du produit (identification, manutention, conditionnement, stockage et protection). S'applique aux composants du produit
	7.6. Maîtrise des dispositifs de surveillance et de mesure : À déterminer (avec cohérence) pour apporter la preuve de la conformité du produit Si nécessaire d'assurer des résultats valables, les équipements de mesure doivent être étalonnés et/ou vérifiés, réglés, identifiés, protégés (en cas de non-conformité, évaluer et enregistrer la validité des résultats antérieurs) La capacité des logiciels doit être confirmée (avant la première utilisation et reconfirmée si nécessaire)

▷ 8. **Mesure, analyse et amélioration**	*8.1. Généralités :* démontrer la conformité du produit. Assurer la conformité du SMQ. Améliorer en permanence la conformité du SMQ.
	8.2. Surveillance et mesures : Satisfaction du client : – surveiller la satisfaction du client (une mesure de la performance du SMQ) – déterminer les méthodes pour obtenir et utiliser ces informations Audit interne (une procédure, enregistrements) : – mener des audits à intervalles planifiés (pour déterminer si le SMQ est mis en œuvre et entretenu conformément à la norme et à ce qui est planifié) – programme d'audit (selon l'état et l'importance des processus et des résultats des audits précédents) Surveillance et mesure des processus : utiliser des méthodes appropriées pour démontrer l'aptitude à atteindre les résultats planifiés Surveillance et mesure du produit : – contrôle du produit à différentes étapes (garder la preuve de la conformité aux critères) – indication de la personne qui a libéré le produit (pour le client) – pas avant toutes les dispositions planifiées (sauf approbation par autorité compétente et cas échéant client)
	8.3. Maîtrise du produit non conforme (*une procédure*) : identifié, maîtrisé et traité. Produit non conforme corrigé : vérifié de nouveau.
	8.4. Analyse des données : Déterminer, recueillir et analyser (pertinence et efficacité du SMQ, possibilité d'amélioration) Fournir des informations sur satisfaction client, conformité, caractéristiques et évolution, les fournisseurs
	8.5. Amélioration (s'améliorer en permanence). Une procédure, enregistrements : Actions correctives : revue des non-conformités et réclamations. Déterminer les causes. Évaluer le besoin d'entreprendre des actions. Déterminer et mettre en œuvre les actions nécessaires. Enregistrer les résultats. Évaluer l'efficacité Actions préventives : Déterminer les non-conformités et leurs causes. Évaluer le besoin d'entreprendre des actions. Déterminer et mettre en œuvre les actions nécessaires. Enregistrer les résultats. Évaluer l'efficacité

Mise en œuvre au sein des établissements de santé

Production, contexte, référentiels, modes de régulation interne et externe ont été précisés (tableau 8.2) ainsi que les évolutions en cours en LABM (point 4). Concernant la sécurité transfusionnelle, les axes de développement actuels concernent essentiellement la transfusion sanguine proprement dite, la gestion des dépôts de sang, les échanges plasmatiques. Ils relèvent du correspondant d'hémovigilance et du comité de sécurité transfusionnel et d'hémovigilance (CSTH) pour les deux premiers, d'autres acteurs pour le troisième.

Outre l'application de la réglementation (évolutive en matière de gestion des risques), ces activités entrent dans le cadre de la certification des établissements de santé, soit par le biais de critères spécifiques (activité transfusionnelle), soit par celui de critères généraux (évaluation des pratiques professionnelles, gestion des risques *a priori*), voire de pratiques exigibles prioritaires (gestion des événements indésirables, gestion du dossier du patient, identification du patient à toutes les étapes de sa prise en charge, prise en charge des urgences et des soins non programmés).

Généralisée à l'ensemble des activités cliniques et médicotechniques dans le cadre de la certification, l'évaluation des pratiques professionnelles[1] repose sur le principe de l'amélioration continue de la qualité ; la première étape, celle de l'évaluation initiale, pouvant être conduite selon des registres variés (par comparaison à un référentiel dans le cadre d'un audit par : analyse de processus, analyse d'un événement indésirable, comparaison à des indicateurs). Dans le champ des activités transfusionnelles, l'approche par comparaison à un référentiel peut être conduite au moyen d'outils mis à disposition des professionnels dans les champs de la transfusion sanguine, de la gestion des dépôts de sang, des échanges plasmatiques[2].

---

1. Méthodes et outils disponibles sur le site de la Haute Autorité de santé (www.has-sante.fr) aux rubriques *Certification, évaluation des pratiques professionnelles* (à terme DPC dans le cadre de la réglementation relative au développement professionnel continu).
2. Documents disponibles sur les sites de l'Institut national de la transfusion sanguine (www.ints.fr), de la Société française de vigilance et thérapeutique transfusionnelle (www.sfvtt.fr), de la Société française d'hémaphérèse (www.hemapherese.fr) et de la Société française des infirmières en hémaphérèse (www.sfih.eu).

9 Transfusion sanguine en Europe

L'organisation de la transfusion en Europe présente une extrême diversité dans ses aspects institutionnels, économiques, sociaux et éthiques. Un débat qui pourrait se résumer ainsi : « Le sang est-il une marchandise ou le produit d'un don véritable ? », anime et ponctue les préoccupations des professionnels de ce secteur ; il a orienté beaucoup de leurs décisions.

Directive 2002/98/CE du Parlement européen et du Conseil du 27 janvier 2003 établissant des normes de qualité et de sécurité pour la collecte, le contrôle, la transformation, la conservation et la distribution du sang humain et des composants sanguins, et modifiant la directive 2001/83/CE, ainsi que les directives 2004/33/CE et 2005/62/CE

La directive fixe des normes communes strictes, applicables au sang destiné aux transfusions humaines, à l'admissibilité des donneurs de sang et de plasma et au contrôle des dons de sang dans l'Union européenne. Elle définit les règles applicables à l'étiquetage et à la traçabilité du sang total et des composants sanguins destinés aux transfusions dans l'ensemble de l'Union. En outre, la directive instaure un système obligatoire de surveillance et d'échange d'informations, conçu pour faciliter l'identification et la communication rapides des risques émergents dans la filière du sang, ainsi que le retrait des lots de sang contaminé éventuels. Les laboratoires, les hôpitaux et les autres établissements qui collectent, manipulent et traitent du sang et des composants sanguins devront mettre en place un système de gestion de la qualité. Les principales exigences de ce système seront définies au niveau européen sur la base de meilleures pratiques, en vue de l'application de normes équivalentes de gestion et de sécurité dans toute l'Union. Le personnel travaillant dans ces établissements et participant directement à la collecte, au contrôle, à la transformation, à la conservation et à la distribution du sang devra suivre une formation répondant à des normes communautaires.

La directive complète également la législation communautaire existante sur les MDS. Depuis 1989, le plasma utilisé pour la fabrication de MDS est

© 2015 Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

couvert par la législation pharmaceutique communautaire. Avant la ratification du traité d'Amsterdam, le sang total, les composants cellulaires et le plasma utilisés à des fins de transfusion ne l'étaient pas. L'article 152 du traité a fourni à la Commission européenne la base juridique nécessaire pour proposer une législation contraignante et prévoit l'adoption, par le Conseil et le Parlement, de mesures fixant des normes élevées de qualité et de sécurité du sang et de ses dérivés. Un comité d'experts des gouvernements nationaux présidé par la Commission élaborera les modalités techniques d'application de la directive et veillera à la mise à jour des dispositions pour tenir compte des nouveaux développements en matière de soins, de santé et en matière scientifique.

L'impact médical de cette directive peut se décliner en dix aspects, qui ne sont pas exhaustifs :

- réaffirmer la responsabilité médicale au sein de la transfusion européenne, en sachant que nombre de dérives sont sous-tendues par les décisions administratives et politiques dont les fondements ne sont pas toujours clairs et cohérents ;
- restaurer la confiance, tant des donneurs que des receveurs, en la transfusion pour une meilleure organisation des dons et des soins, et pallier la tension perceptible dans de nombreux pays où l'approvisionnement est de plus en plus difficile ;
- promouvoir le don volontaire et bénévole est présenté comme « un principe plus actuel que futur » et non comme un principe incontournable. Le bénévolat n'est pas seulement une valeur transfusionnelle en lui-même, c'est aussi une symbolique, et en faire abstraction ouvre la porte à de nombreuses autres dérives ;
- assurer l'autosuffisance est essentiel pour la réalisation des soins, et il ne faudrait pas qu'elle soit mise en balance avec la problématique de la rémunération des donneurs ;
- « prévenir la transmission des maladies » n'est qu'une part des défis majeurs de la transfusion de ce début de siècle ; cette formulation n'est pas le reflet de la réalité d'une transfusion moderne. Ignorer tous les autres risques est probablement une erreur ;
- assurer une traçabilité à tous les niveaux (donneurs, produits, examens, receveurs) à condition qu'elle soit prioritairement destinée à la sécurité et aux soins des malades ;
- développer un réseau de notification des effets indésirables au long de la chaîne transfusionnelle, à condition que son objectif premier soit clairement l'identification et la correction médicale des défaillances ;
- revendiquer les progrès scientifiques et techniques ne devra pas n'être qu'une intention ; le comité proposé n'est pas convaincant car il sera l'émanation de la commission qui n'a aucune compétence dans ce domaine ;

• respecter les organisations locales des services de santé à condition de connaître les conséquences économiques de chaque dispositif : il faut savoir pourquoi il y a de telles distorsions économiques entre les pays ;
• obliger les professionnels à se former périodiquement, et l'ensemble du personnel à répondre à des qualifications adaptées… le tout par des organismes autonomes et indépendants.

La directive 2004/33/CE a trait aux applications en matière de qualité et d'exigence technique ; la directive 2005/62/CE définit des normes, des spécifications relatives au système de qualité.

Variété des systèmes transfusionnels en Europe

Dans cette évolution, les sociétés savantes nationales et internationales ont un rôle et des responsabilités accrues. C'est dans ce contexte qu'a été créée la confédération européenne des sociétés de médecine transfusionnelle, appelée *European Network of transfusion medicine societies* (EuroNet-TMS). Ce qui est attendu d'une telle confédération, c'est de veiller à ce que l'évolution de la discipline transfusionnelle se fasse dans un contexte scientifique et médical adéquat et consensuel. Un tour d'horizon européen montre en effet l'extrême diversité des systèmes transfusionnels.

Allemagne

Elle a toujours été le pays européen posant le plus de problèmes aux défenseurs du don volontaire et non rémunéré, en ce sens où, historiquement, les deux systèmes (lucratif et non lucratif) ont toujours coexisté. Il existe, dans ce pays, trois volets dans l'organisation transfusionnelle : les services de transfusion de la Croix-Rouge, les services du sang et du plasma gouvernementaux (généralement rattachés à des hôpitaux universitaires), et les centres de plasmaphérèses de l'industrie pharmaceutique, représentant un total d'environ 650 000 plasmaphérèses. L'Allemagne, avec 2 millions de donneurs, collecte environ 4,3 millions de dons par an, dont 80 % par la Croix-Rouge. Le nombre de litres de plasma obtenu à partir des dons de sang total de la Croix-Rouge (3,5 millions d'unités) était supérieur à un million de litres en 2010. Les centres de plasmaphérèses ont apporté 100 000 litres supplémentaires. Près de 170 000 litres ont été fournis aux hôpitaux, le reste a été fractionné soit par la Croix-Rouge, soit par l'industrie.

Autriche

L'organisation de la transfusion y est placée sous l'égide de la Croix-Rouge. Le don du sang est bénévole. Il existe sept centres régionaux qui préparent des PSL. Chaque année, près de 500 000 unités de sang sont utilisées par les

hôpitaux. Les produits stables sont exclusivement préparés par des industriels du secteur privé. La collecte de plasma est en majeure partie réalisée par des centres privés, et ces dons sont rémunérés.

Belgique

Les centres de transfusion dépendent de la Croix-Rouge, qui est responsable de la collecte, le don de sang étant bénévole et gratuit. Le pays est largement autosuffisant en sang et produits sanguins. Le niveau de collecte est d'environ 750 000 unités par an. Il importe de noter que la Belgique a un taux d'utilisation des produits sanguins labiles parmi les plus élevés d'Europe.

Danemark

Avec une population totale de 5,2 millions d'habitants, le Danemark compte plus de 270 000 donneurs, soit environ 10 % de la population âgée de 18 à 60 ans. Ce pays détient aussi le taux le plus élevé de consommation des produits sanguins labiles par milliers d'habitants.

Espagne

Une nouvelle organisation décentralisée et un réseau encore en cours de développement sont les principales caractéristiques de ce secteur. Sur un total de 182 centres, 173 sont des banques de sang attachées à un hôpital ou une région ; 58 d'entre eux collectent entre 5 000 et 20 000 unités par an. Chaque province exerce une autonomie sur le plan transfusionnel.

Finlande

L'organisation de la transfusion y est assurée par la Croix-Rouge : *Finnish Red Cross Blood Transfusion Services* (FRC-BTS).

Grèce

Le Centre national de transfusion sanguine et l'unité de dérivés sanguins contribuent fortement à l'application des principes d'autosuffisance de prélèvements de sang chez des donneurs volontaires et non rémunérés. La collecte repose sur le don volontaire et gratuit, et se fait essentiellement auprès des familles et de l'entourage des patients (60 % des dons) ; le don dirigé est possible.

Irlande

Le don est volontaire, anonyme et gratuit ; l'ensemble du système transfusionnel est organisé par un service national unique de la transfusion sanguine.

Italie

Si le ministère de la Santé porte la responsabilité suprême de l'organisation transfusionnelle, il délègue désormais l'aspect organisationnel et

réglementaire au Centre national de transfusion sanguine ; la gestion est en revanche déléguée aux comités régionaux, formés de représentants des pouvoirs publics et des amicales de donneurs. On compte une baisse récente et significative du nombre de centres de collecte, désormais inférieur à 350. Les associations regroupent un million de donneurs. Dans les années 2000, le nombre de dons pour 1 000 habitants était de 51 dans le nord *versus* 36 dans le centre et 21 dans le sud et les îles.

Luxembourg

La Croix-Rouge y a en charge l'approvisionnement en produits sanguins. La mission nationale du service de la transfusion sanguine de la Croix-Rouge luxembourgeoise (CRL) consiste à couvrir les besoins des malades en PSL et en MDS (importés).

Norvège

Les centres de transfusion sont intégrés aux hôpitaux. Les 58 centres sont d'importance variable, allant de 48 000 prélèvements à Oslo à 400 dans les petits centres des contrées reculées. Pour une population de 4,5 millions d'habitants, dont près de la moitié réside dans le sud-est, la collecte annuelle représente 180 000 dons de sang total et 6 000 plasmaphérèses.

Pays-Bas

Au début de 1998, la Fondation CLB et la Fondation Karl Landsteiner, toutes deux faisant partie du laboratoire central de la Croix-Rouge, ont fusionné avec les banques régionales de sang de la Croix-Rouge pour créer la Fondation « Sanquin », opérationnelle à la fin des années 2000. Le fractionnement du plasma est réalisé par le CLB, selon une approche de type privée.

Portugal

Une loi votée en 1989 vise à instaurer un système transfusionnel non rémunéré. Sa mise en place se fait progressivement. Coexistent encore aujourd'hui des centres de transfusion publics et des banques de sang privées ; 70 établissements de transfusion sanguine publics approvisionnent en produits sanguins les hôpitaux publics dans lesquels ils sont intégrés. Il faut noter que la situation antérieure de ce pays était particulièrement hétérogène.

Royaume-Uni

En 1993, a été créée officiellement la *National Blood Service* (NBS), qui a compétence sur l'ensemble de la chaîne du sang en Angleterre, avec autorité sur les quatorze centres régionaux de transfusion (une restructuration de l'organisation transfusionnelle est en cours de discussion, avec une réduction du nombre de plateaux techniques). Elle est chargée d'assurer l'organisation et la gestion prévisionnelle des produits sanguins, tout en

définissant des normes de sécurité, de qualité et de gestion des dépenses. En 2000, les centres régionaux ont collecté 2 200 000 dons, distribués dans plus de 300 hôpitaux. Le *BioProduct Laboratory* (BPL), établissement public créé en 1987 à Elstree (Londres), qui dépend de la NBS, assurait environ les deux tiers de l'approvisionnement britannique en dérivés sanguins, le reste étant fourni par des firmes commerciales ; 1998 a marqué un tournant important dans l'histoire du BPL, lorsque les autorités britanniques ont décidé d'importer du plasma, en raison des risques de transmission du variant de la maladie de Creutzfeldt-Jakob. Le plasma provient des États-Unis.

Suède

Le système transfusionnel est intégré aux hôpitaux. Le don peut être bénévole ou rémunéré. La Croix-Rouge participe activement à la promotion du don de sang bénévole.

L'étude EuroNet-TMS a eu pour objectif de dresser un état des lieux de la transfusion sanguine dans l'Union européenne. L'analyse montre que cette activité est un véritable « patchwork », avec une hétérogénéité présente à tous les niveaux, qu'ils soient administratifs, organisationnels, médicaux ou scientifiques. De ce patchwork, quelles sont les principales pièces ?

De l'échelle européenne au pays

Des questions clés se posent à l'échelle individuelle des pays et constituent, également, les centres de discussion et les enjeux actuels au niveau européen.

- Le *concept d'autosuffisance européenne* : les processus de collecte et d'utilisation du sang et des produits sanguins sont bien entendu suivis et analysés, dans un but d'homogénéisation des techniques, des indications et des pratiques en général, dans le souci permanent de sécurité, d'utilisation optimale et de suffisance de l'approvisionnement à l'échelle des patients des états membres.
- L'*hémovigilance* est un concept né depuis la pandémie du sida ; les populations de l'ensemble de la communauté européenne s'étant focalisées sur les cas de contamination liée à la distribution de produits contaminés dérivés du sang ou du plasma, les professionnels ont dû mettre en commun leurs savoirs et leur savoir-faire pour rétablir la confiance des citoyens. Les besoins d'un système de surveillance ont été analysés et devraient conduire à :
  - fournir aux citoyens de la communauté des données fiables quant au degré de sécurité des produits ;
  - fournir aux médecins l'information précise concernant les agents infectieux connus ou émergents ;
  - établir une base de données nécessaire à l'évaluation des politiques de prévention.

▷

▷

- Les *procédures et les critères de sélection des donneurs* sont très disparates à l'intérieur de la communauté européenne ; ceci est dû principalement aux conséquences de la directive 89/381 qui a assimilé les produits stables à des médicaments ; en conséquence, les exigences pour la sélection des donneurs diffèrent selon qu'il s'agit de dons destinés au fractionnement ou non. La Commission a jugé urgent de rétablir des paramètres homogènes et acceptables dans l'ensemble de la communauté, afin, là encore, de restaurer la confiance de la population sur le plan de la sécurité.
- L'*assurance de la qualité* : il semblerait utile de faire un état des lieux des niveaux d'exigence selon les pays et les établissements ayant déjà mis en place des bonnes pratiques et/ou des démarches qualité afin d'envisager l'élaboration de standards communs.
- *Tests de dépistage* : une longue discussion a concerné aussi l'harmonisation des tests, en particulier des systèmes d'évaluation.
- *Procédures d'inspection et d'accréditation* : la nécessité d'un système d'inspection, qu'il soit obligatoire ou volontaire, est évidente. Elle nécessite des standards de référence, la constitution d'un corps d'inspecteurs, l'organisation de formation des inspecteurs, un système d'accréditation ainsi que des procédures de vérification des produits importés de pays n'appartenant pas à la Communauté européenne.

Organisation des systèmes

Les organisations transfusionnelles sont très disparates. Certaines sont nationales (comme en France, en Angleterre, au Danemark, en Finlande), d'autres régionales (comme en Allemagne), d'autres sont encore plus décentralisées et souvent liées aux hôpitaux (comme en Italie et en Suède). Globalement, la place de la Croix-Rouge a diminué au profit du rôle des États, de plus en plus impliqués. Désormais, la majorité des pays dispose d'une autorité de tutelle : l'ANSM en France ; le *Paul-Ehrlich Institut* en Allemagne. De même, les fonctions d'un établissement de transfusion sont très différentes selon les pays. Si les missions de base sont le plus souvent identiques (collecte, contrôle, transformation, stockage et distribution), les questionnaires rapportent que, dans plusieurs pays, les établissements exercent d'autres activités : biologie médicale et thérapie cellulaire (France, Espagne), histocompatibilité (Autriche, Belgique, Finlande, France, Royaume-Uni, Suède) hématologie biologique (Finlande, Grèce, Italie). Si l'on considère le personnel, les disparités sont encore plus flagrantes et apparemment sans lien direct avec les missions : le ratio personnel/nombre de prélèvements était en 2005 de 1/714 en Angleterre, 1/522 en Finlande, 1/364 en Italie et 1/292 en France, selon les estimations de l'Union européenne.

Substituts des produits sanguins : en Europe et aux États-Unis

La transfusion repose sur des composants qui sont soit des cellules, soit des protéines ayant des fonctions spécifiques. Aussi l'une des questions essentielles est-elle de connaître l'état de l'art sur la substitution de ces cellules ou protéines afin de remplir les mêmes fonctions.

Les différentes formes d'hémoglobine développées à ce jour n'ont pas fait la preuve clinique de leur capacité à remplacer les globules rouges. Elles se heurtent aux difficultés de compréhension des mécanismes d'oxydation de l'atome de fer de l'hème, aux problèmes de mise au point des procédés de production de grande quantité (tant pour l'hémoglobine d'extraction que pour l'hémoglobine de recombinaison génétique) et à l'optimisation des technologies de purification assurant l'innocuité du produit. Les essais cliniques fondés sur des dérivés de perfluorocarbone ont confirmé leur toxicité. Les essais d'expansion à large échelle de progéniteurs ne font que commencer. Aussi apparaît-il que le recours aux globules rouges humains de donneurs de sang restera une nécessité pendant au moins dix ans. Durant cette période, les évolutions seront probablement dues à des modifications à type de pegilation, traitement enzymatique ou développement de programmes utilisant des facteurs de croissance.

Les recherches actuelles ne laissent pas envisager de perspectives prochaines sur un substitut de plaquettes. La découverte de la thrombopoïétine et de son dérivé le MGDF ont fait espérer une possibilité de substitution, mais les premiers essais cliniques ont révélé des effets secondaires majeurs.

Parmi les MDS, il est très probable que l'albumine (pour des raisons de production) et les immunoglobulines intraveineuses (pour des raisons scientifiques) seront encore dans dix ans des produits issus du plasma humain. Les biotechnologies ont permis la production de protéines recombinantes se substituant aux protéines de la coagulation, en particulier facteur VIII, facteur IX et même les autres facteurs de coagulation. Il faut espérer que, dans les dix années à venir, des anticorps monoclonaux recombinants se substitueront aux immunoglobulines spécifiques (anti-RhD, par exemple). L'essentiel des travaux se développe en Europe et aux États-Unis.

Stratégies face au don et au donneur

L'analyse de l'étude EuroNet-TMS révèle de grandes disparités dans ce domaine. Sept points particuliers significatifs de ces disparités sont à relever :

- la mobilisation des populations des pays de l'Union européenne est très hétérogène : le taux de donneurs va de 4 à 11 pour 1 000 habitants en âge de donner leur sang ;
- les méthodes de sensibilisation et de recrutement diffèrent totalement selon les pays, sans qu'une réflexion européenne n'ait été engagée afin

que chacun puisse développer une stratégie propre en fonction de ses spécificités ;

- les règles et pratiques afférentes au don diffèrent aussi selon les pays : il n'existe pas de *guidelines* homogénéisées. Les recommandations sont le plus souvent locales ou nationales ;
- l'intervalle des âges pour donner son sang est très divers : il va de 17 à 70 ans selon les pays. De même, les rythmes de dons sont également quelque peu différents ;
- les donneurs ont été confrontés à de nombreuses interrogations, dont celle correspondant au « questionnaire ». Peu à peu, et grâce aux différentes directives européennes, les donneurs ont signifié leur accord. Il n'y a pas de position consensuelle en ce qui concerne la confidentialité des déclarations ;
- cette enquête révèle un souci, celui de l'aspect médical du don et de l'approche des donneurs : dans 100 % des pays, un médecin est responsable de la « qualité clinique » du donneur ; il n'est obligatoirement spécialisé que dans 19 % des pays. Dans 56 % des pays, le rôle et les responsabilités des infirmières, voire des techniciens sont reconnus, mais toujours sous la responsabilité d'un médecin ;
- un des problèmes majeurs soulevés est celui de la rémunération des donneurs. Actuellement, trois pays (sur quinze) paient des donneurs pour recueillir leurs cellules. D'autres pays expriment leurs craintes s'il s'agit d'une possibilité pour assurer l'autosuffisance.

Pratiques transfusionnelles

Les pratiques transfusionnelles sont très différentes en Europe. Si l'on considère l'utilisation des PSL, comment comprendre que le nombre de PSL utilisés en France est de 40 et en Grèce de 32, alors qu'il est de 93 en Finlande et de 73 en Allemagne ? De plus, le type de produits est différent. L'Espagne utilise 4 fois moins de plasma que la Suède et 2,5 fois moins que la France. Aux deux extrêmes, on trouve l'Espagne (3 % des PSL) et l'Allemagne (22 %). Ces écarts ne peuvent qu'engendrer des interrogations qui doivent obtenir des réponses afin d'identifier la cause.

En matière d'utilisation des concentrés de plaquettes, les différences sont moindres mais significatives : la Suède en consomme cinq fois moins que l'Espagne ou la Finlande. Le Royaume-Uni et la France sont dans la moyenne des consommateurs en Europe (tableau 9.1).

L'enquête EuroNet-TMS révèle que tous les pays ne disposent pas de *guidelines* fondées sur des bases scientifiques et médicales. Les *guidelines* sont très hétérogènes et issues d'organismes variables, allant des sociétés savantes aux agences d'État. Les pratiques sont d'autant plus variées que les organisations ne sont pas identiques : le rôle des établissements de transfusion et

Tableau 9.1. Nombre de concentrés érythrocytaires transfusés pour 1 000 habitants en Europe (données de 2005). Les chiffres restent stables en 2012.

Pays	Nombre de concentrés érythrocytaires/1 000 habitants
Danemark	63,6
Grèce	59,9
Allemagne	52,6
Belgique	50,2
Suède	49,6
Luxembourg	48,7
Islande	48,1
Italie	47,1
République tchèque	42,9
Suisse	42,0
Royaume-Uni	41,8
Slovénie	39,5
Pays-Bas	35,5
Portugal	34,0
Croatie	33,5
Espagne	33,0
Irlande	32,9
France	**32,1**
Serbie	31,3
Slovaquie	30,2
Lettonie	20,6
Bulgarie	20,3
Moldavie	6,0
Arménie	2,3

celui des hôpitaux sont différents. Les banques de sang n'ont pas toutes les mêmes fonctions. Toutes ces disparités sont liées au fait que l'organisation des systèmes de soins est difficilement comparable. En corollaire, il importe de souligner la place de l'immuno-hématologie dans la sécurité transfusionnelle, et ce d'autant que les techniques sont de plus en plus standardisées. Les derniers travaux montrent qu'il existe toujours une grande hétérogénéité d'utilisation des PSL selon les pays.

Stratégies de prévention de transmission des virus, bactéries et parasites

L'enquête EuroNet-TMS montre que l'Union européenne n'avait pas de stratégie univoque à l'égard des agents infectieux transmissibles par le sang. Néanmoins, la situation semble évoluer et cinq points peuvent être évoqués :

- les choix concernant le dépistage des agents infectieux ont toujours été individuels et non collectifs, sans véritable concertation à l'échelle de l'Europe ;
- les progrès en matière de tests de dépistage sont le fruit des actions de recherche et développement des grandes firmes internationales, lesquelles utilisent ce réel avantage à des fins de lobbying ;
- afin d'affiner les dépistages des virus, les stratégies reposant sur la biologie moléculaire ont mis près de 3 ans à s'installer ; l'étude EuroNet-TMS montre que l'Europe est aujourd'hui capable d'établir des stratégies d'efficacité sur des populations 1,5 fois supérieures à celle des États-Unis. C'est ainsi que la volonté de l'Europe s'affirmera ;
- en matière de dépistage des bactéries, la situation est très hétérogène, sans aucune base scientifique ; il n'y a pas d'approche univoque et d'essais comparatifs à l'échelle européenne. Certains lobbies ne risquent-ils pas d'être plus efficaces qu'une démarche scientifique ?
- néanmoins, l'organisation européenne de la transfusion sanguine se met peu à peu en place, en particulier à travers le projet de biothèque BOTIA (*Blood and Organ Transmissible Infectious Agents*), qui a une mission d'observation des agents transmissibles et des positions à prendre à l'égard de ces agents.

Le développement des risques liés aux agents infectieux transmissibles oblige à une vigilance très organisée. C'est la voie que prend l'Europe, avec un souci essentiel de communication et d'information.

Hétérogénéité de l'hémovigilance

L'hémovigilance est un concept récent — une dizaine d'années — et qui a été officialisé par la directive 2002/98/CE. Néanmoins, elle est différemment comprise et interprétée dans les pays européens. Aux extrêmes sont la France et l'Angleterre. En Angleterre, l'organisation SHOT (« *Serious Hazards of Transfusion* ») est un système volontaire, indépendant, fondé sur le recueil des effets secondaires importants et significatifs. En France, l'organisation de l'hémovigilance est placée sous l'autorité d'une agence d'État, fait appel à des déclarations obligatoires et exhaustives, et s'immisce plus ou moins dans le travail des opérateurs de la transfusion. Entre ces deux extrêmes, les pays de l'Union européenne ont fait différents choix adaptés selon des modes volontaires ou obligatoires. La mise en place du réseau européen d'hémovigilance (EHN) permet déjà une bonne gestion

des alertes immédiates. Dans ce cadre, la directive européenne définit trois obligations : la traçabilité, les modes de notification et les effets secondaires, et ceci doit devenir le « plus petit dénominateur commun » de l'hémovigilance européenne.

Formations des personnels et systèmes qualité

Les systèmes de formation sont très hétérogènes en Europe, ainsi que les niveaux exigés pour les pratiques professionnelles. Durant la formation des étudiants en médecine, 70 % des pays réservent une place spécifique à la transfusion. Dans la moitié des cas, la transfusion est reconnue comme une spécialité médicale. En règle générale, il est demandé 1 ou 2 ans de formation spécifique, en plus d'une formation autre en médecine interne, hématologie, anesthésie, biologie médicale, pour être qualifié « spécialiste ». Il faut néanmoins dissocier ce type de formation des niveaux exigés pour occuper un poste donné dans le « paysage transfusionnel » : chaque pays a ses propres règles. L'organisation et la reconnaissance des diplômes et unités de valeur sont sous la responsabilité d'organismes très différents selon les pays : sociétés savantes, universités, collèges professionnels, autorités de santé. Dans 59 % des pays, la formation continue médicale est reconnue : les systèmes de crédit-formation se mettent en place.

Les formations, spécifiques à la transfusion, des infirmières sont peu répandues, en dehors de programmes de formation disponibles dans un tiers des pays. La formation des techniciens est relativement standardisée en Europe ; or il n'y a pas de formation spécifique pour les techniciens travaillant en transfusion sanguine. Certains pays développent des programmes adaptés de formation continue.

La formation est d'autant plus importante qu'elle est un élément de base des systèmes d'assurance qualité, des procédures d'accréditation et de certification, par ailleurs très hétérogènes en Europe. Il n'y a pas d'Europe des systèmes qualité en transfusion ; de même, les procédures de certification et d'accréditation y sont encore très hétérogènes.

Socio-économie

La sociologie des donneurs est également très variée. L'étude EuroNet-TMS révèle de grandes différences de comportements selon les pays. Ainsi, en matière de personnel des établissements de transfusion, il y a 55 personnes (infirmières, techniciens, médecins, etc.) par million d'habitants au Royaume-Uni, *versus* 143 en France, 113 en Italie et 118 en Finlande. Ces chiffres ne sont pas corrélés au mode d'organisation et à l'existence de banques de sang ou de dépôts.

La proportion des personnels médicaux et scientifiques est également très différente : 7 % en Finlande et 34 % en Italie, 14 % en France et 9 % en Angleterre.

La sociologie des donneurs varie de même considérablement. Si l'on prend comme critère le pourcentage de nouveaux donneurs (selon une même définition), il est de 5,3 % au Luxembourg, 29,6 % en Espagne et 16 % en Belgique.

En matière de prix de cession des produits sanguins, les comparaisons sont souvent difficiles. Néanmoins, les CGR sont suffisamment standardisés pour être analysés : à l'intérieur d'un pays, leur prix peut varier de 65 à 154 euros, et si l'on compare tous les pays de l'Union, ces prix s'échelonnent de 65 à 227 euros pour des produits qui doivent permettre d'assurer une même sécurité à l'égard des malades. Si l'on considère le plasma frais congelé, on note un facteur de 3,5 entre le prix le plus élevé et le moins élevé. Dans ses disparités, la diversité des prix des produits sanguins rejoint ainsi celle du médicament.

L'effort financier destiné à la recherche semble très variable selon les pays. Il apparaît plutôt faible, la recherche et développement étant surtout réalisés par l'industrie.

Stratégies du plasma

Il n'y a pas de stratégie européenne du plasma « non-profit ». Toutes formes de plasma confondues, l'Union européenne n'est pas autosuffisante. Par ailleurs, la collecte du plasma pose un problème majeur : le sang humain peut-il faire partie du système marchand ? Certains pays ont déjà franchi le pas.

L'Europe est autosuffisante en plasma thérapeutique (PFC), en dehors du Royaume-Uni du fait des risques liés au prion. Les besoins sont néanmoins très différents selon les pays : 11 000 unités par million d'habitants en Allemagne, 8 600 unités en Italie, 4 170 unités en France et seulement 1 260 unités en Espagne. Les décisions de la cour de justice européenne s'imposent et mettent en particulier en jeu la distribution du plasma.

En matière de fractionnement, à peine 50 % des pays de l'Union se déclarent autosuffisants en plasma. Quantitativement, le déficit est important, malgré l'utilisation clinique des protéines recombinantes.

En matière d'utilisation des protéines plasmatiques, deux observations s'imposent : la place prépondérante du facteur VIII recombinant par rapport au facteur VIII plasmatique (il en est de même pour le facteur IX) ; les règles et les habitudes de prescription différentes, qui conduisent l'Allemagne à utiliser 600 kg d'albumine par million d'habitants alors que le Royaume-Uni n'en utilise que 200.

Les acteurs et leur rôle

À l'échelle de l'Union européenne, le fonctionnement de la transfusion fait intervenir huit catégories d'acteurs :

- les établissements de transfusion ;
- les banques de sang des hôpitaux et des dépôts ;

- les laboratoires de biologie ;
- les cliniciens prescripteurs de produits sanguins ;
- les institutions à caractère universitaire et de recherche ;
- les autorités de tutelle, qu'elles soient européennes (Commission européenne) ou nationales ;
- les sociétés savantes et autres organisations ;
- les industriels.

Quant à l'hémovigilance, sa place est particulière selon les pays. Les donneurs ont un rôle essentiel, qui doit être différencié de celui des opérateurs.

Pour que le paysage transfusionnel soit en harmonie et puisse ainsi remplir ses missions, il faut que chacun des acteurs soit bien à sa place pour que les dérives ne viennent rompre des équilibres déjà fragiles. Ainsi, à titre d'exemple, ne faut-il pas :

- favoriser l'homogénéisation de la chaîne transfusionnelle et des relations établissements de transfusion et hôpitaux au travers de l'Europe pour assurer une traçabilité et une sécurité maîtrisées, sans qu'homogénéité soit synonyme d'uniformité ;
- créer des synergies entre recherche et études cliniques d'une part, entre recherche et développement industriel d'autre part, pour maîtriser les risques et assurer une évolution des produits et procédures, en sachant que l'industrie est au cœur de la recherche transfusionnelle appliquée ;
- limiter les effets du lobbying, en particulier industriel, afin que l'*evidence-based medicine* l'emporte sur toutes les autres considérations ;
- faire en sorte que les décisions prises à l'échelon européen ou national soient moins technocratiques que médicales et scientifiques, reposant sur des avis transparents.

Si l'état des lieux réalisé par l'étude EuroNet-TMS révèle une grande hétérogénéité, l'objectif n'est pas l'uniformité.

La transfusion sanguine dans le Monde

Il y a une forte évolution vers le bénévolat, de telle sorte que les dons non rémunérés dépassent les 100 millions. Cette notion de don non rémunéré n'est en fait valable que pour les produits sanguins labiles, du fait que les produits sanguins stables issus du plasma sont en grande partie obtenus par des prélèvements non bénévoles (tableau 9.2).

Tableau 9.2. Nombre de dons de sang non rémunérés (*estimations*).

1997	75-77 millions
2004	80-85 millions
2011	107 millions

Très souvent, on considère que le revenu et le développement du pays sont parallèles au type de don, de telle sorte que les pays à faible revenu disposent de très peu de donneurs et de dons (tableau 9.3).

Trop souvent, les besoins sont supérieurs à l'offre en produits sanguins, de telle sorte que 82 % des habitants de la planète ne sont pas certains de pouvoir recevoir le sang qui permettrait de préserver leur vie (tableau 9.4).

La répartition des donneurs est très différente de celle observée en Europe : il y a 30 % de femmes, 38 % de donneurs âgés de 25 à 44 ans et 27 % de donneurs âgés de 18 à 24 ans. Ces disparités sont relativement importantes, liées en particulier à la diversité immunogénétiques (des phénotypes rares ou spécifiques aux variants), mais également à la diversité microbiologique selon les types de virus ou de parasites. Il faut noter que la qualification des produits est très hétérogène selon les pays, de même que les normes utilisées. Du fait des conditions climatiques et d'hygiène, le stockage est le plus souvent incertain. Peu à peu, les dons se développent, en particulier en Asie du Sud-Est, en Afrique, en Asie selon l'effet intitulé Chine-Singapour, et le Pacifique occidental.

Dans le reste du monde, il importe de bien comparer la rareté générale de l'offre à l'augmentation croissante des besoins, du fait que ces pays peu à peu ont recours à des traitements de plus en plus sophistiqués et pour lesquels les transfusions de produits sanguins labiles sont nécessaires, voire indispensables. Le cas des enfants est extrêmement aigu du fait de leur fragilité et de la diversité de leur pathologie, tous éléments qui rendent la situation souvent précaire. La place de la sécurité de l'hémovigilance et de l'évaluation est insuffisamment prise en compte. Dans 62 % des pays, une politique nationale transfusionnelle est mise en place. L'aspect réglementaire allant des lois aux arrêtés est la référence dans 60 % des États.

Tableau 9.3. Selon le revenu et le développement des pays.

39,2 pour 1 000	Pays à revenu élevé
12,6 pour 1 000	Pays à revenu moyen
4 pour 1 000	Pays à faible revenu

Tableau 9.4. Dons de sang dans le monde (offres et besoins).

Offres	Non rémunérés (98 pays)	Volontaires* Famille* Compensation* Reposition*
	Rémunérés (8 pays)	
Besoins	82 % des habitants de la planète incertains de recevoir du sang (PSL)	

* Classification admise des différents types de donneurs, en particulier par l'OMS.

10 Sociologie de la transfusion sanguine

De nombreux travaux anthropologiques ou sociologiques ont montré l'importance du don et des représentations du sang dans l'histoire de l'Humanité. Ces représentations, même de façon inconsciente, ne sont pas absentes de la démarche du donneur de sang, de la perception de la transfusion sanguine dans l'opinion, ni même probablement de la logique apparemment rationnelle des décideurs et des scientifiques.

Depuis les travaux de Marcel Mauss, il est admis que le don est le fondement du lien social dans les sociétés humaines. Puis celles-ci ont évolué en structurant la circulation des biens et des services dans la sphère marchande, régie par le contrat, ou dans la sphère étatique, régie par les principes d'équivalence et d'équité. Pour certains, dans nos sociétés modernes dominées par le marché, le don se limiterait à la sphère des réseaux primaires, ceux de la famille ou des amis intimes. Certains sociologues affirment au contraire l'existence d'un don moderne aux étrangers qui ne serait pas seulement la réminiscence d'une forme de charité, mais recouvrirait un pan non négligeable de l'activité économique. Une étude sur le don en France (sous toutes ses formes : argent, nourriture, vêtements, etc.), suggère que le don s'inscrit dans l'imaginaire d'une société d'individus libres et égaux, et qu'il vise le rétablissement d'une égalité de condition, une préservation de la dignité humaine. Les valeurs associées au don sont l'entraide et la solidarité. Le contre-don, c'est-à-dire la réciprocité obtenue, se limiterait à la satisfaction d'avoir aidé un être égal, et donc d'être en harmonie avec sa vision personnelle de la société. Le don du sang n'échapperait pas à cette analyse. En offrant leur sang, les donneurs partageraient leur capital santé et viseraient ainsi à rétablir une égalité de condition mise à mal par la maladie ou l'accident.

Indissociable de l'histoire collective humaine, intimement liée à l'identité de chacun, le sang continue à véhiculer socialement les questions et les grandes tendances qui traversent la société. Les tensions les plus fréquentes dans ce domaine se situent entre l'intérêt de l'individu et celui de la collectivité. Dans la longue histoire qui relie l'homme et le sang, Jean Bernard[1] distingue trois périodes. La première est magique, religieuse et philosophique : les religions orientent leurs réflexions et leurs symboles autour du

1. Jean Bernard. *La Légende du sang*. Paris : Flammarion ; 1992.

© 2015 Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

sang. Le sang est la vie, il est pureté ou impureté, témoin de la transmission héréditaire des vertus. La deuxième période est médicale, parcourue par quatre courants : anatomique, physiologique, embryologique et technique. En dépit de remarquables progrès, les études consacrées au sang sont peu nombreuses avant les années 1930. La troisième période voit apparaître les changements liés aux techniques nouvelles, du microscope électronique à la biologie moléculaire. Au-delà de la médecine, l'évolution de la science du sang concerne toute la biologie ; hors de la médecine, l'étude du sang a même apporté aux géographes et aux historiens de nouvelles données et engendré de nouvelles disciplines, comme l'hématologie géographique.

Mythes et ambivalences

Depuis l'Antiquité, les mythes et croyances attachés au sang sont marqués par l'ambivalence que suscite un liquide à la fois symbole de vie et de mort, tel celui de la Gorgone, à la fois redoutable poison mortel et élixir capable de ressusciter un défunt. Dans son ouvrage *Le Sang* (1988), Jean-Paul Roux rappelle que, de tout temps, l'Homme a considéré comme dangereux l'effusion de ses liquides corporels, mais que la perte du sang est la plus terrifiante de toutes. Car le sang est symbole de vie, comme le suggère le *Lévitique* (« *car la vie de toute chair, c'est son sang* »), la vie qui s'échappe lorsque le sang de l'homme s'écoule à la guerre ou à la chasse, et qui lui rappelle constamment sa vulnérabilité et le caractère éphémère de son passage sur terre. Ainsi les Chinois pensaient-ils, mille ans avant J.-C., que l'âme était contenue dans le sang d'un individu. Les Celtes considéraient également que le sang était dépositaire de l'âme et de l'énergie d'un être. Ce liquide vital associait les principes lunaires et solaires, le liquide et le feu, l'humain et l'universel. Mais pour presque toutes les cultures et les civilisations, le sang s'écoulant à intervalles réguliers par le sexe de la femme a longtemps été considéré comme une souillure, une source de danger pour l'homme et sa descendance qui naîtrait de rapports sexuels réalisés pendant ces périodes.

Il aura donc fallu briser ce tabou universel pour admettre l'idée de transfuser, c'est-à-dire de faire couler le sang d'un homme pour l'injecter dans les veines d'un autre. Les informations historiques sur les techniques transfusionnelles sont relativement rares avant le XIXe siècle, à part les récits évoqués par Diderot et D'Alembert dans l'*Encyclopédie* (1751-1772). Il est difficile de dater historiquement la première tentative effective de transfusion. Il est cependant certain que les représentations magiques du sang, fluide vital, ont conduit précocement les premiers médecins et chirurgiens à envisager le sang comme un remède. Le bain de sang a été utilisé dans l'Égypte antique pour soigner l'éléphantiasis. Outre cette pratique, les Grecs et les Romains pratiquaient l'hémophagie. Pline l'Ancien le conseillait au Ier siècle après J.-C. pour soigner l'épilepsie, Galien contre

la rage, les Vikings contre le scorbut. L'usage de la transfusion sanguine pour rajeunir un malade affaibli est relaté dans divers ouvrages au fil des siècles. Dans ses *Métamorphoses*, Ovide raconte que Médée eut recours à une forme d'exsanguino-transfusion afin de rajeunir Aeton, le père de Jason. Au XVe siècle, le pape Innocent VIII, en état de semi-coma probablement dû à une insuffisance rénale chronique, aurait bénéficié sans succès d'une expérience du même ordre, dont on ne sait si l'administration fut orale ou intraveineuse : afin de revigorer le vieil homme, on sacrifia trois jeunes pâtres d'une dizaine d'années.

Longtemps, on a pensé que les caractères intimes d'un individu pouvaient se transmettre par le sang. Pline l'Ancien raconte l'avidité avec laquelle les citoyens romains se précipitaient pour boire le sang versé par les gladiateurs, espérant récupérer un peu de leur force et de leur bravoure. Même les débuts historiques de la transfusion sont imprégnés de cette croyance : sous Louis XIV, Jean-Baptiste Denis, pionnier de la transfusion thérapeutique, préférait utiliser du sang animal, selon lui moins susceptible d'« *être rendu impur par le vice ou la passion* ».

Au XXe siècle, ces croyances ont été largement exploitées par le cinéma et la littérature.

Le don, les dieux et le sang

Marcel Mauss a décrit en 1921, dans son essai sur le don, comment les sociétés humaines archaïques se sont structurées autour de la triple obligation de donner-recevoir-restituer. Ce mode primitif de relation sociale s'est instauré pour préserver la paix entre les communautés. Mauss suggère que l'un des premiers groupes d'êtres avec lequel les hommes ont dû contracter sous cette forme était celui des esprits des morts et des dieux, véritables propriétaires des biens du monde. La destruction sacrificielle est une donation qui attend un retour : la clémence ou la prospérité. La plupart des cosmogonies révèlent un acte sanglant à l'origine de la création du monde et/ou de la vie ; en contrepoint, l'effusion de sang est, dans pratiquement toutes les civilisations, nécessaire à la satisfaction des dieux ou à l'obtention de leur pardon. Puis la relation entre les hommes et leurs dieux va s'apaiser. Le sang animal versé par le sacrifice suffira à contenter ces derniers. Dans la Bible, Dieu met fin au sacrifice humain en détournant le bras d'Abraham prêt à immoler son fils Isaac sur sa demande. Puis le sacrifice revêtira dans le christianisme une dimension symbolique par l'eucharistie : le symbole de l'alliance éternelle entre Dieu et les hommes.

Les Témoins de Jéhovah réfutent la rédemption du péché de l'Homme par la mort du Christ. Le sang est sacré puisqu'il contient la vie donnée par Dieu. L'interdiction de consommer le sang est une loi divine qu'ils refusent de transgresser sous peine de perdre leur salut éternel. Cette croyance justifie leur refus des transfusions sanguines.

Les pionniers de la transfusion

L'un des pionniers de la transfusion moderne fut James Blundell (1790-1877). Ce physiologiste et obstétricien anglais mit au point les premières techniques de transfusion parce qu'il se sentait consterné par sa propre impuissance face aux hémorragies de la délivrance. Les transfusions réalisées entre la fin du XIXe siècle et le début du XXe siècle, avec une totale méconnaissance des mécanismes immunologiques d'incompatibilité, étaient des traitements de la dernière chance pour des situations de choc hémorragique, en obstétrique ou en chirurgie militaire. La découverte, en 1901, des groupes sanguins ABO par Karl Landsteiner (1868-1943) apparaît aujourd'hui comme une découverte majeure de l'histoire de la médecine. Il faudra pourtant attendre une quinzaine d'années pour qu'elle trouve son application dans l'acte transfusionnel ; les débuts de la médecine transfusionnelle sont freinés par des obstacles techniques : la transfusion directe nécessite une anastomose vasculaire donneur-receveur. Dangereuse pour le donneur, elle est peu adaptée à l'urgence. Quant à la transfusion indirecte, elle pose alors des problèmes de coagulation.

Les avancées technologiques sont favorisées par l'explosion des besoins en sang de la Première Guerre mondiale. On est désormais en mesure d'anticoaguler le sang par le citrate et de respecter la compatibilité ABO. La transfusion indirecte peut se développer et s'étendre à la médecine civile. Très vite, se pose le problème d'un nombre insuffisant de donneurs, par ailleurs indemnisés pour les frais de déplacement, le temps perdu, la fatigue occasionnée et, même s'ils n'étaient pas vraiment mentionnés, les dangers et inconvénients encourus par le donneur : infections, sacrifice de l'artère radiale lors des transfusions directes…

L'Assistance publique est sollicitée pour créer un fichier de donneurs disponibles. Le docteur Arnaud Tzanck (1886-1954) crée en 1923 l'Œuvre de la Transfusion sanguine d'urgence à Paris. Le fichier de donneurs est surtout composé d'étudiants en médecine, d'agents hospitaliers, de gardiens de la paix, de sapeurs-pompiers. Il leur est demandé d'être sobre et de santé parfaite, de bonne présentation personnelle et de ne pas porter de stigmates physiques et biologiques de syphilis et de paludisme. Les règles sont nombreuses : pouvoir être atteint par téléphone ou par télégramme, pouvoir se rendre une fois par mois à un appel, s'engager à se rendre à l'appel sans le moindre délai, passer un examen médical et venir se faire examiner au moins une fois par trimestre, aux mêmes horaires et, en cas d'incapacité momentanée, prévenir.

Les fondements de l'éthique

Pendant la Seconde Guerre mondiale, en France, l'organisation d'un service de transfusion capable d'accompagner la reconquête est confiée au docteur

Edmond Benhamou. Celui-ci se structure à partir de l'Algérie. Des grands noms de la transfusion d'après-guerre y participent ou y sont formés, tels les docteurs A. Tzanck, E. Aujaleu, et le futur prix Nobel Jean Dausset. Cette nouvelle organisation s'appuie sur un don bénévole, par ailleurs nécessaire lorsqu'il faut transfuser des résistants pour lesquels il n'est pas possible de faire appel aux fichiers de donneurs « officiels ».

Dès la fin de la Seconde Guerre mondiale, la situation évolue rapidement du fait de l'engouement populaire suscité par le don du sang au moment de la reconquête du territoire par les Alliés. Ce nouvel élan conduit, en 1948, à la création de la Fédération nationale des donneurs de sang bénévoles de France et d'outre-mer, aujourd'hui dénommée Fédération française pour le don de sang bénévole (FFDSB). En 1952, une consultation des donneurs regroupés au sein de la FFDSB plébiscite à 92 % le don bénévole. La même année, la loi dite « Aujaleu » impose le non-profit, mais ne peut pas entériner le choix du bénévolat pour maintenir l'autosuffisance en produits sanguins. Il faudra attendre la loi de 1993 pour que le bénévolat du don du sang soit inscrit dans le Code de santé publique.

La FFDSB regroupe actuellement plus de 2 300 associations et amicales, lesquelles collaborent activement avec les établissements de transfusion dans le cadre de la promotion du don, de l'information des donneurs et de la population générale, ainsi que dans l'organisation des collectes de sang. Elle fédère également trois groupements nationaux issus d'entreprises du service public (SNCF, La Poste et France-Télécom) et de l'Éducation nationale. Forte de plusieurs centaines de milliers d'adhérents, la FFDSB défend les principes éthiques qui régissent la transfusion française (bénévolat, anonymat et non-profit) et est membre de la Fédération internationale des organisations de donneurs de sang (FIODS) ; un code national d'éthique est en cours de réécriture ce qui permettra une réactualisation.

Le débat sur l'éthique du don du sang et de ses composants est toujours d'actualité, notamment pour les protéines issues du fractionnement du plasma. L'industrie mondiale du fractionnement est séparée en deux parties : l'une s'appuyant sur la rémunération des « donneurs » ; l'autre revendiquant des produits d'origine éthique, c'est-à-dire exclusivement préparés à partir de dons bénévoles. En France, la totalité du plasma traité par le Laboratoire français du fractionnement et des biotechnologies (LFB) est d'origine bénévole. Cependant, le statut de médicament octroyé depuis 1989 aux protéines plasmatiques permet aux établissements de santé de s'approvisionner auprès du fournisseur de son choix, y compris pour des produits issus de prélèvements rémunérés, et préparés dans d'autres pays. La pression exercée par l'augmentation croissante des besoins en plasma pour la production d'immunoglobulines polyvalentes alimente le débat. Les arguments en faveur de l'un ou l'autre système sont résumés dans le tableau 10.1.

Tableau 10.1. Arguments en faveur du bénévolat ou de la rémunération des dons de sang.

Arguments en faveur du don bénévole	Arguments en faveur de la rémunération
– La protection de l'identité humaine à travers l'affirmation des principes de non-patrimonialité, de non-violation de l'intégrité physique et de respect et de primauté de la personne humaine se situe dans la mouvance du principe constitutionnel de sauvegarde de la dignité de la personne humaine (Droits de l'homme et abolition de l'esclavage). – L'abandon de ces principes universels pour les éléments du sang entraînerait une réaction en chaîne pour tous les éléments du corps humains : CSH, organes, tissus, procréation, etc. – Le bénévolat repose sur l'idée de la participation de tous les citoyens à la constitution d'une réserve collective de produits sanguins, par ailleurs garantis à tous ceux qui en ont besoin. C'est un principe de mutualisation de santé publique, et le respect d'un principe d'équité sociale. – Le don du sang et de ses composants n'a pas vocation à se substituer aux politiques sociales d'aide aux personnes vulnérables. – L'absence de contrepartie renforce la qualité et la fiabilité des informations communiquées lors de l'entretien pré-don. C'est avant tout un élément de protection de la santé du donneur.	– La rémunération permet d'introduire la notion de contrat entre la personne prélevée et l'organisme collecteur. Ce contrat permet d'instaurer des formules d'abonnement garantissant l'efficience des organisations et la réduction des coûts de production. – Le contrat instauré entre la personne prélevée et l'organisme collecteur permet d'engager davantage la responsabilité de la personne prélevée en cas de non-respect des dispositions relatives à la sécurité transfusionnelle. – La rémunération est supposée favoriser l'autosuffisance. En dédommageant la personne prélevée et en garantissant l'accès aux produits thérapeutiques, elle participerait au bien-être du plus grand nombre. Il s'agit donc d'une forme d'éthique utilitariste.

Aspects sociétaux du don du sang

Depuis vingt ans, plusieurs études sociologiques ont cherché à comprendre les motivations des donneurs de sang en France. Si une étude réalisée en 1983 décrit une forte présence des représentations symboliques du sang dans la population des donneurs de sang, les études suivantes semblent montrer une désacralisation progressive de l'image du don. Pour autant, le don du sang conserve une forte dimension sociale, confirmée dans chacune de ces études. Il semble également que la construction dramatisée du besoin et du receveur demeure une constante au cours du temps. Cette dramatisation est sans doute nécessaire pour dépasser les freins à la démarche. En 2007, 68 % des personnes interrogées considéraient que « le sang personnel qui sauve » était une motivation à donner ou à redonner (étude du Centre de recherches pour l'étude et l'observation des conditions de vie ou CREDOC). La typologie des donneurs dessine deux grands groupes de sujets : les donneurs « opportunistes » et les donneurs « sous conditions » (étude Louis

Harris/EFS, 2002). Les premiers, qui représenteraient 50 % des donneurs, inscrivent leur démarche dans une participation spontanée, occasionnelle, facilitée par une sollicitation directe. Les seconds (25 % des donneurs) ne participent que si les conditions d'information et d'accès au don facilitent leur démarche. Ceci explique pourquoi plus de 80 % de l'approvisionnement en sang total est réalisé lors de collectes organisées sur les lieux de vie des donneurs (communes de résidence, lieux de travail, établissements d'enseignement). Enfin, ces études attirent l'attention sur la méconnaissance de l'organisation transfusionnelle par les donneurs, mais aussi sur la méconnaissance des mécanismes du risque transfusionnel, dont beaucoup considèrent que la gestion relève de la responsabilité des professionnels. Ce constat s'explique par la confrontation de deux logiques en présence : celle du donneur, guidée par la démarche altruiste du don, et celle de l'institution transfusionnelle, représentée par le médecin qui réalise l'entretien pré-don, structurée autour de la sécurité des produits.

Les principaux freins à la participation au don du sang exprimée dans les sondages d'opinion sont « le fait de ne pas y penser » (34 % pour les donneurs, 41 % pour les non-donneurs), et « le fait de ne pas être sollicité » (32 % pour les donneurs, 41 % pour les non-donneurs). L'entrée dans la vie active et la constitution d'un foyer ne sont donc pas favorables au passage à l'acte. Cela se confirme par une moindre participation de la tranche d'âge des 25-35 ans au don du sang. Les évolutions sociodémographiques récentes, marquées par une forte urbanisation, la tendance à l'individualisation des rapports sociaux sont autant de facteurs généraux qui s'ajoutent aux freins individuels et parfois les renforcent. Afin d'éviter ces difficultés, il devient incontournable de multiplier les actions de sensibilisation de l'opinion, et d'entretenir une relation durable avec les donneurs en intégrant des méthodes issues du marketing social. En effet, si 90 % des donneurs ayant donné dans l'année affirment vouloir renouveler leur geste dans les 6 mois, ce score tombe à 27 % si le dernier don date de plus de 2 ans (CREDOC, 2007).

L'évolution sécuritaire de la transfusion sanguine au cours des dernières décennies a introduit de nouvelles problématiques de communication autour de la politique sanitaire de sélection des donneurs. L'intérêt collectif de sécurité transfusionnelle se heurte parfois à l'intérêt individuel. L'évolution de la société a introduit de nouvelles relations entre les professionnels de la santé et les usagers, fondées sur les notions de droit des malades, de construction négociée et partagée de la prise en charge médicale. Or, la sélection des donneurs ne s'accommode d'aucune négociation possible. Les critères de cette sélection, fondés sur les données épidémiologiques des maladies transmissibles par voie sanguine, croisent des sujets de société délicats, sur lesquels l'évolution des mentalités se heurte aux exigences des mesures de prévention liées à la sécurité transfusionnelle. Cette problématique est particulièrement présente dans le débat récurrent sur l'admission au don du sang des hommes

ayant des rapports homosexuels. Parce que le don du sang est fondé sur des motivations centrées sur le tissu social, la confrontation de ces logiques peut être source de tensions. De même, le recours fréquent au principe de précaution dans le domaine de la sécurité transfusionnelle soulève de nouvelles questions d'ordre éthique relatives aux conséquences psychologiques, mal évaluées, de certaines contre-indications définitives au don du sang. Les conséquences de l'annonce, à l'occasion d'une démarche de don, d'un risque personnel d'exposition à certains agents émergents (par antécédent transfusionnel, par antécédent familial de maladie de Creutzfeldt-Jakob) n'ont pas fait l'objet d'études spécifiques. Enfin, la participation des nouvelles générations issues de l'immigration devient un enjeu sanitaire important pour disposer de produits sanguins compatibles pour des malades drépanocytaires polytransfusés. Or, il faut attendre la troisième génération pour que le sentiment d'appartenance à la collectivité conduise à participer au don du sang.

Le vieillissement annoncé de la population est un facteur à prendre en compte dans les prévisions des besoins futurs. Actuellement, plus de 60 % des concentrés érythrocytaires sont distribués pour des patients âgés de plus de 60 ans, dont le nombre va croître dans les années à venir. L'absence d'alternative à la transfusion sanguine attendue pour la décennie à venir conduit à demeurer vigilant quant à l'adhésion des donneurs à un système qui a fait la preuve de son efficacité. La prise en compte des données sociologiques est plus que jamais essentielle dans la conception de l'organisation du don et des modalités de recrutement et de qualification des donneurs.

L'activité transfusionnelle, qui se situe à mi-chemin entre la médecine et la pharmacie, a pu, en France, éviter l'exploitation directe du corps des plus pauvres, comme cela est le cas dans d'autres pays, qu'ils soient considérés comme « émergents » ou non. Elle a servi de modèle pour la législation française en matière de bioéthique. Historiquement, les donneurs ont su, à travers le poids de leurs associations, imposer leurs valeurs à l'abri des enjeux de l'économie de marché. Ces enjeux sont et seront toujours d'actualité. Le maintien du bénévolat et du non-profit, s'il relève avant tout d'un choix de société fondé sur le respect de la dignité humaine, a montré, à l'échelon international, son intérêt pour garantir une sécurité maximale des donneurs et des receveurs (tableau 10.2).

Tableau 10.2. Objectifs du don de sang : du praticien au donneur.

Objectifs du praticien	Garantir l'approvisionnement
	Gérer les risques
	Préserver la santé du donneur
Objectifs du donneur	Répondre à un phénomène social dans une société où les individus sont libres et égaux
	Imposer la dignité de la personne humaine
	Défendre la solidarité, l'entraide et la symbolique du don

11 Éthique et transfusion sanguine

L'éthique est un concept philosophique dérivé de la laïcité et lié à la substitution de la morale d'une part, de l'observance de préceptes d'autre part. Il est commun de la définir comme « la morale en action ». Comment cette notion peut-elle s'appliquer à l'utilisation thérapeutique de produits issus du corps humain, dès lors qu'il n'existe pas de substitut, ce qui est le cas pour les greffons et transplants, les produits sanguins labiles, certains produits sanguins stables ou médicaments dérivés du sang et, dans une certaine mesure, les gamètes ? Les parties engagées dans le débat éthique en transfusion sanguine sont au nombre de quatre : les donneurs de sang ou de composés sanguins, ainsi que leurs représentants associatifs ; les opérateurs de la transfusion sanguine (en France, l'Établissement français du sang et le Centre de transfusion sanguine des armées) ; l'État et en particulier sa composante des systèmes d'assurance maladie ; les receveurs de produits sanguins labiles et de médicaments dérivés du sang et, agissant pour eux, les prescripteurs.

L'éthique est régie par un Code international d'éthique et un Code national, en cours de révision afin d'être adapté aux évolutions du monde actuel. En matière juridique, la Cour de justice européenne est le dernier intervenant de la chaîne, ce qu'a révélé l'affaire du plasma à utilisation thérapeutique.

Éthique liée aux donneurs de sang

Elle tient principalement aux grands principes du don dit « éthique ». Ces principes sont, dans notre pays, hérités de l'histoire des associations de donneurs, elles-mêmes issues de deux courants : un premier courant, largement majoritaire, est profondément laïc et issu du militantisme social, un second est issu de mouvements chrétiens sociaux. Ces deux courants partagent cependant les mêmes valeurs : un respect de l'anonymat, du bénévolat (non-profit) et du volontariat.

Anonymat

Ce principe (qui verrouille l'impossibilité de relier le donneur et le receveur autrement que par un code) ne pose que le problème, certes crucial, de la sécurité des systèmes d'information et des bases de données, dans une société où d'une part, la tendance est à numériser le plus possible l'individu

© 2015 Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

(ce qui peut tendre à uniformiser ses identifiants et à les rendre ainsi transparents), d'autre part, certains enjeux de santé publique, en particulier de nature infectieuse, peuvent amener à lever des identités pour revenir vers le donneur en vue de sa propre sécurité ou de celle de ses proches ou de celle de futurs receveurs (c'est aussi le cas pour des enquêtes de nature contentieuse). Chaque levée d'identité peut être en effet une menace de rupture accidentelle d'anonymat.

Volontariat

En première intention, cette valeur paraît très robuste. Néanmoins, dans un contexte de tension sur les approvisionnements, une certaine pression peut être exercée sur les volontaires figurant dans la base des donneurs connus, par le biais de relances, parfois appuyées en fonction de diverses caractéristiques immuno-hématologiques. Ensuite, certains messages, en particulier relayés par les médias, peuvent apparaître culpabilisants. Enfin, des pressions sociales plus ou moins discrètes, dans les milieux familiaux, de l'entreprise, ou en tout autre lieu communautaire, peuvent affecter le caractère purement volontaire (libre arbitre) de la démarche d'un individu donné à un moment donné.

Bénévolat

Ce point est, à ce jour, largement le plus sensible. Bien que recommandé par l'Organisation mondiale de la Santé (OMS), le don bénévole de sang ou de composants sanguins — par opposition à la rémunération — n'est pas universel ; il tend à l'être dans les pays économiquement développés pour les produits cellulaires et le plasma thérapeutique, mais la situation est beaucoup plus complexe pour le plasma destiné au fractionnement. En France, ce dernier est exclusivement recueilli par l'Établissement français du sang et le Centre de transfusion sanguine des armées, et exclusivement cédé par ces opérateurs nationaux au Laboratoire français du fractionnement et des biotechnologiques (LFB), dont la devise est *l'engagement éthique*. D'autres fractionneurs que le LFB font part de leur intérêt pour fractionner du plasma français ou pour mettre en place une filière de collecte de plasma dit « non éthique » : dans une telle filière, le « donneur » pourrait être rémunéré en vertu d'un principe de la libre concurrence des biens et des marchandises — ce que n'empêche pas la directive européenne. Une rémunération du don de plasma poserait en France le problème de la commercialisation des produits issus du corps humain.

Éthique du côté des opérateurs (préleveurs)

Quatre paramètres bien distincts peuvent ici être considérés.

Respect de la sécurité des donneurs

En théorie, les donneurs étant en bonne santé (l'entretien pré-don a impérativement validé ce point), et les dispositifs de prélèvement étant stériles et clos, le sujet volontaire ne court pas de risque en étant candidat à un don de sang. En pratique toutefois, le risque de malaise durant ou après le don n'est pas négligeable, en particulier après les aphérèses plasmatiques (plus que les aphérèses cellulaires). Ce risque peut avoir deux types de conséquences :

- une chute après un malaise vagal, lequel, en lui-même, ne s'est pas avéré grave (grade 1 ou 2, par exemple) mais a pu entraîner une blessure ou un désagrément comme des lunettes brisées, un vêtement taché ou déchiré ;
- un malaise grave nécessitant une assistance et une hospitalisation.

L'opérateur a, bien entendu, l'obligation de mettre tout en œuvre pour pallier ce type d'incident ; il prend néanmoins le risque de les voir survenir pour mener à bien sa mission de mise à disposition d'un stock de produits sanguins. En ce qui concerne tous les types de prélèvements, mais plus particulièrement ceux requérant une technicité plus grande (prélèvement par aphérèse), des risques de défaut de technicité sur la ponction veineuse ou d'erreur humaine d'autre nature, peuvent être à l'origine d'incidents, voire occasionnellement d'accidents, très exceptionnellement dramatiques.

Respect du devenir du sang offert

L'opérateur a aussi le devoir moral que la très grande majorité des dons offerts entre dans la filière thérapeutique et ne se périme pas. Ce point est d'ailleurs souvent utilisé comme indicateur dans le système de *management* pour la qualité des opérateurs et dans le cadre des certificats ISO 9001. Cela signifie qu'un minimum de produits soit mis en destruction pour défaut de procédure (erreur ou absence d'étiquetage, ou masse non conforme), que le stock soit géré pour que les produits sanguins soient délivrés avant leur date de péremption, et que les invitations au don soient ajustées au stock et à des projections de délivrance. Le respect de la délivrance, par l'opérateur, du maximum de produits offerts par les donneurs est un point qui occasionne un faible degré de tolérance des professionnels mais, paradoxalement, une plus grande compréhension de la part des donneurs, lesquels ont bien compris les difficultés de gestion des stocks et sont sensibles aux efforts réalisés par l'opérateur. Les prescripteurs sont parfois moins tolérants vis-à-vis de ces efforts en raison de leurs exigences en faveur des receveurs : l'opérateur peut ainsi se trouver dans un conflit éthique « donneur-receveur »…

Rétrocession à titre onéreux aux établissements de soins de produits sanguins offerts par les donneurs

La loi de 1998 a prévu que l'opérateur assurait son économie grâce à la vente de produits (actes de soin, actes de biologie médicale) et à la cession

aux établissements de soins, selon un tarif officiel, publié par décret interministériel. L'opérateur doit en effet répercuter sur ce tarif tous les coûts de son circuit, en intégrant toutes les étapes allant de la promotion du don aux différents types de vigilances et d'enquêtes, les coûts mobiliers et immobiliers, et les salaires des personnels. Il doit justifier devant ses tutelles qu'aucun profit n'est réalisé sur ces opérations, qu'aucune charge indue n'est imputée sur la rétrocession des produits — tout en conservant la possibilité de moderniser ses processus, y compris intellectuels et conceptuels, par des programmes de recherche apparaissant raisonnables et justifiés dans le cœur de métier — et qu'un équilibre économique est obtenu.

Problématique des sangs rares

Compte tenu de la mondialisation, un nombre non négligeable de personnes vivent — et vieillissent — en France en étant originaires de parties du monde où la répartition des phénotypes sanguins diffère largement de celle de la majorité des Caucasiens. Ces communautés, dont certaines transmettent, avec une large pénétrance, des gènes d'hémoglobinopathies, sont de forts consommateurs de produits sanguins labiles (concentrés de globules rouges en particulier). La nature privée de l'absence de certains gènes (H, par exemple) impose de recourir à l'apport « communautaire » de dons de sang ; de même, les Africains et les Antillais résidant en France ont-ils des répartitions des antigènes RH différentes de celles des Caucasiens, imposant d'enrichir le stock de concentrés de globules rouges compatibles pour transfuser de tels patients. Cela impose de pouvoir émettre des messages directs vis-à-vis de ces communautés, au risque d'entrer en conflit avec le principe infrangible du volontariat et du bénévolat. Au plan biologique, la gestion de ces problèmes est assurée par le CNRGS.

Éthique et tutelles, organismes de régulation et organismes payeurs

Une dimension éthique existe au niveau de la surveillance des dons et des donneurs, dans la surveillance déléguée à l'opérateur mais vérifiée et contrôlée par l'ANSM et les ARS. Plus important sans doute est le rôle des autorités de décision sur les contraintes pesant sur les opérateurs et sur les donneurs au regard de l'hypersécurité « receveur », qui restreint le nombre de donneurs éligibles pour tel ou tel type de don et pourrait menacer la première des sécurités, qui est celle de l'approvisionnement en produits sanguins labiles. C'est là un véritable enjeu éthique entre la sécurité « donneur » et la sécurité « receveur » en termes de quantité de produits disponibles. De même, les autorités ont une responsabilité d'éducation vis-à-

vis des citoyens, en aidant à revaloriser l'image de la transfusion en vue de permettre à l'opérateur d'être plus actif vis-à-vis des donneurs et de rassurer praticiens et patients vis-à-vis de l'acte transfusionnel. L'autorité est ainsi prise entre deux feux, celui de la défense sécuritaire (particulièrement fort en médecine transfusionnelle) et celui du besoin, d'autant que l'autorité affirme, à chaque contrat avec l'opérateur, sa première exigence qui est celle de l'approvisionnement. Ce problème éthique est donc ici le niveau de santé et de sécurité que la société attend pour ses malades, par rapport aux moyens qu'elle est prête à consacrer pour l'atteinte de ses objectifs.

Enjeux éthiques chez les receveurs de produits sanguins labiles (et chez les receveurs de médicaments dérivés du sang)

Ces enjeux relèvent de plusieurs niveaux.

Disponibilité des produits (sécurité des approvisionnements)

Les enjeux éthiques sur la disponibilité des produits ont été abordés précédemment à propos des contraintes croissantes pesant sur l'environnement du don. Il peut y avoir également une réelle problématique dans la disponibilité de produits rares : concentrés de granulocytes, concentrés de plaquettes phénotypées dans un groupe HLA ou HPA rare (posant le problème de l'identification d'un donneur potentiel, de sa mobilisation, et de l'acheminement du produit s'il est prélevé à distance), concentrés de globules rouges de phénotype rare ou exceptionnel (posant le problème de l'incrémentation des banques de sangs rares), certains médicaments dérivés du sang (mise à disposition d'un produit sans perspective commerciale dans le cadre de maladies orphelines). Ces exemples mettent en évidence le problème d'un choix de société entre un certain jusqu'au-boutisme en termes de « droit » d'un patient ou d'un groupe de patients à disposer d'un type de produit et ce que peut accepter la société représentée par l'État qui donne les autorisations et les budgets (pour les produits sanguins labiles), ou ce que peut engager, en termes de production, une société commerciale avec participation de l'État (pour les médicaments dérivés du sang). Le point central du débat est l'accessibilité de produits sanguins potentiellement salvateurs « en l'état de l'art » (car il n'y a en général pas de consensus professionnel sur ce type d'exceptions). La mise à disposition de produits rares, en particulier s'ils sont labiles, n'est pas de mise (à l'exception des banques de concentrés de globules rouges et de concentrés plaquettaires congelés) pour ne pas périmer le produit d'un don ayant mobilisé un donneur, parfois au détriment de sa vie professionnelle ou personnelle.

Sécurité microbiologique et immunologique des produits

Ce point est en apparence plus simple, car il se résume à l'application de moyens de prévention d'un risque pour le receveur de produits sanguins labiles ou de médicaments dérivés du sang, à travers des mesures décidées en fonction de l'état des connaissances sur le sujet. Un exemple dans le domaine infectieux a été le dépistage du portage du parasite responsable de la maladie de Chagas ; un autre exemple, dans le domaine de l'immunologie, a été le dépistage des anticorps anti-HLA dans les dons faits par des femmes ayant des antécédents de grossesses, en vue de la prévention du TRALI après la transfusion de plasma frais congelé ou de CPA. Ces deux exemples mettent en lumière l'exigence légitime des autorités sanitaires relative au risque de rupture d'approvisionnement en produits sanguins, en termes de stocks de plasmas frais congelés et de CPA disponibles ou mobilisables. Le point capital de ce débat éthique par excellence est l'état de l'art sur tel ou tel risque transfusionnel : peut-on aller plus loin ? Doit-on prendre en considération un risque infectieux rare, voire rarissime, dès lors qu'on a connaissance d'une transmissibilité potentielle par le sang de l'agent en cause et imposer une qualification supplémentaire des dons ou des donneurs selon la circonstance, avec une conséquence sur le coût de production d'un produit sanguin labile ou d'un médicament dérivé du sang, et sur la disponibilité des donneurs, pouvant fragiliser la sécurité des approvisionnements ? Ce débat perdra de son intensité avec l'arrivée des procédés de réduction de pathogènes, qui ne sont actuellement déployables que sur les concentrés plaquettaires et sur le plasma frais congelé. Ces procédés sont efficaces sur la grande majorité des agents infectieux pourvus d'acides nucléiques (à l'exception, donc, des prions). Il sera néanmoins toujours difficile de décider la suppression de certains tests de qualification (sauf pour le CMV !). Pourtant, de telles suppressions réduiraient les coûts de production d'un produit sanguin labile et absorberaient en partie le surcoût imposé par la systématisation du nouveau procédé. Par ailleurs, ces procédés d'inactivation des pathogènes, étant actifs sur les leucocytes, contribueront à réduire le risque immunologique. Le débat éthique sur tout ceci devra inclure la sécurité et l'économie, qui ont souvent été antinomiques dans le passé.

Sécurité des circuits et sécurité de l'acte transfusionnel

Si le point de la sécurisation de l'acte transfusionnel dans sa réalisation n'entre pas dans un débat éthique, en revanche celui de l'intensité des démarches d'amélioration en cas de défaillance est du domaine de la

décision d'attribution de moyens par l'autorité locale ou régionale à l'établissement de soins défaillant : jusqu'où attribuer ces moyens *a priori* supplémentaires ? Plus difficile comme réflexion est celle relative à la mise en place de circuits informatiques de plus en plus sécurisés sur le plan médical, mais pouvant ouvrir des brèches dans le domaine de « l'informatisation » de l'individu même.

Information des receveurs

L'information des receveurs de produits sanguins labiles est une obligation légale, depuis le Code de déontologie médicale de 1995, puis la circulaire du 9 avril 1998, révisée par la loi du 4 mars 2002, dite loi Kouchner. Les points majeurs sont le respect de la volonté du patient adulte et en possession de ses moyens intellectuels, ou de ses parents ou de son tuteur s'il est mineur. La difficulté majeure tient aux patients âgés, dont la conscience est altérée, eu égard à la désignation d'une personne dite de confiance, mais dont le pouvoir n'est pas décisionnaire — la décision appartient au médecin, qui en fait part à cette personne —, ou encore aux patients handicapés mentaux vis-à-vis de leurs tuteurs. Ces aspects sont couverts par la loi Kouchner, mais peuvent faire débat dans leur application en matière de transfusion sanguine, plus encore que pour d'autres traitements : car vont se percuter les perceptions qu'ont du sang le médecin, le patient et l'entourage proche du patient. Un aspect relativement mal couvert par la législation est celui du patient adulte à la conscience ordinairement claire, mais altérée dans le cas présent par la maladie ou par son traitement (morphiniques, modificateurs du comportement, etc.).

Enfin, on retrouve ici le problème des opposants à la transfusion pour des raisons religieuses. Les chefs de file en sont les Témoins de Jéhovah. La législation est actuellement assez précise, mais son application chez la personne âgée et plus encore chez l'adolescent obédient, baptisé et donc religieusement mature à défaut d'être civilement majeur (les Témoins de Jéhovah n'adhèrent pas complètement à la législation, sans toutefois y contrevenir) peut être difficile à gérer. Ainsi, la volonté d'une personne âgée et ayant fait savoir qu'elle était opposée à la transfusion peut ne pas être portée à la connaissance de l'équipe soignante par compassion familiale (à l'opposé, une personne âgée peut être déclarée opposante, alors qu'elle n'avait pas exprimé son opinion). On peut encore considérer le cas de la transfusion de la personne âgée, voire très âgée, pour laquelle il peut y avoir débat au sein de l'équipe soignante. Ce contexte rejoint celui de la transfusion en fin de vie d'un patient, avec ce que l'on qualifie communément d'« acharnement thérapeutique » : la loi du 22 avril 2005, dite loi Léonetti, a largement clarifié la situation, mais une marge d'appréciation demeure ouverte au débat éthique, tant auprès des équipes de soins qu'auprès des familles d'un sujet en toute fin de vie. C'est un sujet qui fera encore de longs débats.

Évaluation bénéfice/risque pour les produits sanguins labiles

Dans la plupart des situations, le médecin prescripteur n'est pas seul dans la décision d'une prescription de médicaments dérivés du sang (titulaires d'AMM ou parfois d'ATU) ou de produits sanguins labiles (recommandations de l'HAS-ANSM et conférences de consensus), mais il peut être encore mal à l'aise avec ces recommandations : le risque est celui de la perte de chance d'un patient qui aurait pu bénéficier d'une transfusion. Il a été établi que le retard à la transfusion était responsable d'au moins deux fois plus de morts par an en France que la transfusion elle-même par ses accidents (trois ou quatre décès annuels, directement imputables aux produits ou à l'acte transfusionnel). De nouveaux débats éthiques peuvent apparaître sur les recommandations devant le cumul permanent des connaissances scientifiques et le besoin de sécurité toujours croissante des produits. Cela étant, il peut y avoir mise en danger des approvisionnements : le regain actuel des échanges plasmatiques a entraîné une augmentation considérable du besoin en plasmas frais congelés, avec un impact sur la livraison de plasma matière première au LFB, car le plasma collecté était en l'occurrence réorienté vers la filière thérapeutique directe. De même, le débat sur la transfusion dans des conditions extrêmes (comme la fin de vie), précédemment abordé, a un autre questionnement : faut-il transfuser massivement un grand blessé dont l'espérance vitale est quasiment nulle ? Il n'est pas rare d'effectuer des délivrances massives de concentrés de globules rouges mais aussi de plasmas frais congelés et de concentrés plaquettaires au bénéfice d'un patient allant décéder, et ce au prix d'une gestion acrobatique des stocks, voire, notamment avec certains groupes sanguins (comme O^-), d'une rupture de stock. Doit-on, dans ces circonstances, exiger une délivrance respectant le groupe, même s'il s'agit d'une femme jeune ? Non, selon le point de vue de nombre de professionnels, car le risque d'immunisation est alors extrêmement faible, et l'on a le devoir de protéger le stock « central » (ou national en période de tension) de produits sanguins labiles au bénéfice des autres transfusés de la région (en particulier pour ce qui concerne des produits sensibles comme les concentrés de globules rouges O^-, les plasmas frais congelés AB, et les concentrés plaquettaires en général). Néanmoins, ces interrogations doivent être mutualisées et entrer dans un débat de société : jusqu'où aller pour un seul patient et à quel prix pour le reste de la communauté ?

Un dernier point mérite d'être évoqué, car il associe la collecte d'un produit labile et l'élaboration d'un médicament dérivé du sang. Il s'agit de l'approvisionnement en plasma riche en anticorps anti-D pour la prophylaxie de l'immunisation anti-D chez les sujets à risque. Cet approvisionnement ne peut provenir que de sujets immunisés ayant des taux élevés

d'anticorps anti-D. Or ces derniers n'existent plus en France, en raison de la prophylaxie de l'immunisation gravidique et post-gravidique, et de l'interdiction aux sujets transfusés de donner leur sang (ou plutôt l'interdiction faite à l'opérateur d'accepter leur candidature au don). Cela implique donc un approvisionnement auprès de pays étrangers, mais celui-ci pose en lui-même un problème éthique : car ce plasma matière première, qui peut être obtenu par rémunération, provient d'individus immunisés, certes parfois à la suite d'une grossesse, mais aussi parfois « à propos », après injection de petites doses de globules rouges RH1 chez des sujets RH-1. Il est à noter que cette dernière pratique (non rémunérée toutefois) était parfaitement admise en France il y a quelques décennies. Dès lors, les combats nationaux pour une bonne tenue éthique et pour une sécurité maximale se taisent pour l'acceptation de ce produit, qui est ainsi tout à fait hors norme. Qui plus est, les indications d'anticorps anti-D s'accroissent considérablement, imposant aux pharmacies hospitalières d'effectuer une régulation stricte pour ne pas risquer de rupture d'approvisionnement. Il en résulte ipso facto une « relance du marché » et donc, pour les fractionneurs de plasma des filières non éthiques, une volonté de stimuler la fréquentation au don par la rémunération et l'immunisation volontaire… Cet état de fait est une réalité pour les anticorps anti-D mais aussi pour tous les médicaments dérivés du sang dont la demande s'accroît et dépasse la capacité de production du LFB. Cela génère des marchés croissants pour les fractionneurs non éthiques avec, pour eux, un bénéfice dans une pratique non éthique et, pour les donneurs de plasma rémunérés, une prise de risque, d'autant que certains de ces derniers fréquentent trop régulièrement pour leur santé, dans certains pays, les centres de prélèvement de plasma rémunéré.

Éléments de réflexion sur l'éthique à l'échelle de l'homme en vue d'une approche de l'autosuffisance et de l'épidémiologie

- Autonomie de la personne qui effectue le don.
- Intégrité du donneur.
- Non-commercialisation des produits issus du don.
- Anonymat, bénévolat, volontariat du donneur.
- Respect de la justice social et des liens sociétaux.
- Universalité des dons, formalisés par un contrat ou non.
- Approche éthique de l'autosuffisance, accompagnée d'une épidémiologie sans cesse en évolution.

12 Innovation scientifique et technique en transfusion sanguine

Au cours des dernières années, le développement spectaculaire de l'étude du génome humain a débouché sur des concepts et des méthodes qui ont révolutionné la biologie médicale, en ouvrant des perspectives considérables en matière de médecine prédictive et de diagnostic. Il a été également admis qu'une étude approfondie des produits des gènes (transcrits et protéines) était indispensable pour comprendre les mécanismes qui sous-tendent l'architecture et les fonctions cellulaires dans des situations normales et pathologiques. De même, l'étude des interactions entre protéines (interactome) et celle des métabolites cellulaires (métabolome) devraient contribuer à améliorer nos connaissances sur le fonctionnement cellulaire. Ces études sont sources de progrès dont peuvent bénéficier de nombreuses disciplines, comme la transfusion sanguine.

L'ère de la génomique

Les progrès observés dans le cadre du « Projet Génome Humain » ont conduit à la détermination de la séquence complète du génome (3×10^9 paires de bases, 25 000 gènes) et à la mise en place de technologies permettant le génotypage à grande échelle de polymorphismes fondés sur la substitution par un simple nucléotide, que l'on appelle des SNP (*Single Nucleotide Polymorphisms*), désormais largement utilisés comme « balises » pour des corrélations avec des maladies génétiques. Ces technologies sont disponibles et utilisables pour le génotypage des groupes sanguins érythrocytaires, plaquettaires et leucocytaires. Les principaux objectifs consistent, d'une part, à compléter l'apport des techniques de sérologie classique lorsque ces dernières ne permettent pas d'obtenir un résultat pertinent, d'autre part, à améliorer la compatibilité transfusionnelle et la sécurité du patient transfusé en réduisant le risque d'allo-immunisation.

Détermination des groupes sanguins par génotypage

La détermination des groupes sanguins par le phénomène d'agglutination des globules rouges est une technique de base, développée de longue date, de l'immuno-hématologie. Elle repose sur la réunion en amas des cellules, provoquée par l'addition d'un anticorps spécifique dirigé contre un antigène présent à la surface des hématies. Il en existe de nombreuses variantes

© 2015 Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

techniques, et des automates de phénotypage de groupes sanguins à grande échelle des principaux systèmes (ABO, RH, Kell, Duffy, Kidd) sont disponibles. Ces méthodes sont réputées simples, rapides, reproductibles et d'un faible coût, mais elles sont aussi parfois sujettes à des limitations, par exemple dans des contextes pathologiques (malades polytransfusés, anémies hémolytiques auto-immunes, greffe de cellules souches hématopoïétiques), ou en présence de variants rares, ou encore pour la réalisation de phénotypes étendus, lorsque les réactifs sont rares ou indisponibles.

Les progrès réalisés en matière de biochimie et de biologie moléculaire ont permis, depuis une vingtaine d'années, d'établir la base moléculaire des groupes sanguins et de leurs polymorphismes, ouvrant ainsi la voie à l'apparition de techniques de génotypage moléculaire.

Polymorphisme des groupes sanguins au niveau moléculaire

En 2010, la Société internationale de transfusion sanguine a répertorié environ 300 antigènes répartis en 30 systèmes (puis 35 en 2014), et tous, à l'exception d'un seul (P1), ont une base moléculaire connue. La séquence des gènes et des protéines a été déterminée, ainsi que la base moléculaire des principaux polymorphismes génétiques, c'est-à-dire des variations de séquence en ADN des principaux allèles (formes alternatives d'un même gène) dans une population, pouvant ou non entraîner des variations de la séquence protéique. Plus de 1 000 allèles sont actuellement répertoriés dans les banques de données. Ces polymorphismes sont détectables par des procédés immunologiques (anticorps spécifiques) et/ou non immunologiques (taille de la protéine ou d'un fragment de gène, charge électrique, séquence, etc.). Par exemple, le polymorphisme *JK*A/JK*B* dans le système Kidd résulte d'une mutation ponctuelle changeant le nucléotide G (guanine) en A (adénine) en position 893 dans l'exon 9 du gène JK, définissant un SNP dont la fréquence dans la population caucasienne est d'environ 0,53 pour l'allèle *JK*A* et 0,47 pour l'allèle *JK*B*. Cette mutation se traduit par la substitution de l'acide aspartique (Jk^a) par une asparagine (Jk^b) en position 280 dans la séquence codante de la protéine Jk. Les anticorps anti-Jk^a et anti-Jk^b reconnaissent spécifiquement les protéines portant respectivement l'acide aspartique et l'asparagine en position 280. Le génotypage JK consistera pour sa part à déterminer directement la présence du nucléotide G ou A en position 893 dans l'ADN des sujets à étudier.

Les polymorphismes simples causés par des SNP surviennent à la fois dans des régions codantes et surtout non codantes des gènes, et représentent les variations les plus fréquentes en génétique humaine. Cependant, d'autres polymorphismes mettent en jeu des mécanismes plus complexes, par exemple des réarrangements génétiques tels que des recombinaisons homologues (*crossing-over*) ou des conversions géniques (entre des gènes homologues). C'est le cas, en particulier, des polymorphismes caractéristiques des gènes *ABO* et *RH*, ce qui rend leur détection par génotypage plus complexe à réaliser.

Méthodologie générale de génotypage moléculaire

Il existe une grande variété de techniques de génotypage moléculaire. La majorité fait intervenir une réaction de polymérisation enzymatique en chaîne, qui a pour but d'amplifier un fragment d'acides nucléiques encadrant la région qui porte le polymorphisme à étudier. C'est la PCR (*Polymerase Chain Reaction*). On peut amplifier un seul fragment à la fois (PCR simple) ou amplifier simultanément diverses régions du génome encadrant les mutations à analyser (PCR multiplexe). La méthodologie générale de génotypage comporte plusieurs étapes : extraction de l'ADN à étudier ; amplification PCR simple (ou multiplexée) du ou des fragments portant le ou les polymorphismes ; marquage du produit de PCR (amplicon) par un traceur (souvent fluorescent) pendant ou après la PCR ; hybridation de l'amplicon par complémentarité de séquence avec des sondes nucléotidiques (oligonucléotides de synthèse portant les polymorphismes à étudier) immobilisées sur un support (microplaques, lames de verres, microbilles, etc.) ; révélation des hybrides formés ; analyse d'image (fluorescence) et interprétation par un logiciel spécialisé de bio-informatique. Des variantes existent selon la méthode utilisée pour la détection des amplicons, par exemple lorsque l'on effectue un miniséquençage par électrophorèse capillaire ou spectrométrie de masse.

Ce type de génotypage s'applique à la détermination du polymorphisme des groupes sanguins érythrocytaires, des antigènes plaquettaires (HPA) et des antigènes leucocytaires (HLA).

Génotype versus phénotype

Actuellement, les techniques de génotypage apparaissent destinées à compléter plutôt qu'à remplacer les méthodes sérologiques classiques. Comme dit précédemment, les génotypages *ABO* et *RH* sont rendus difficiles par la complexité des polymorphismes de ces systèmes qui mettent en jeu des recombinaisons génétiques. Une erreur ABO ne serait pas acceptable. Par ailleurs, les groupages ABO et Rh standard sont effectués par des techniques simples, sûres et peu coûteuses, avec des réactifs spécifiques disponibles en quantité illimitée (anticorps monoclonaux). Les techniques de génotypage présentent encore un coût élevé, mais peuvent être utilisées pour des génotypages étendus à d'autres systèmes de groupes sanguins chez des donneurs de sang ou des malades susceptibles d'être transfusés.

On a coutume d'opposer *phénotype* et *génotype*, car c'est le premier et non le second qui est requis pour les besoins transfusionnels. Le plus souvent, les résultats de génotypage et de phénotypage sont concordants. Il existe cependant des situations dans lesquelles cette concordance peut être est mise en défaut, par exemple en cas de transfusions massives, de transplantation de cellules souches hématopoïétiques, de phénotypes rares avec des gènes absents or réarrangés (Rh_{null}, Jk_{null}, McLeod, CO_{null}, D partiels, etc.) ou de mutation *de novo*. Le génotypage résout aisément plusieurs de ces

situations, à l'exception, dans l'état actuel, de certains variants rares ou de variants nouveaux. Potentiellement, cependant, le génotypage peut fournir le phénotype vrai, à condition que tous les polymorphismes responsables de ces variants soient analysés sur une « puce à ADN » régulièrement actualisée, ce qui est possible sur le plan technique, à l'exclusion des mutations *de novo*, mais avec un surcoût.

Plates-formes de génotypage

Depuis plusieurs années, un nombre croissant de laboratoires mettent en place des méthodes artisanales de génotypage des groupes sanguins fondées sur la PCR afin de compléter les données des études de sérologie classique, notamment pour résoudre des difficultés de typage chez des polytransfusés (hémoglobinopathies), en présence de globules rouges sensibilisés par un anticorps (maladies auto-immunes), ou d'une très faible réactivité antigénique (variants rares). Une autre application concerne la détermination du génotype *RHD* fœtal chez les femmes enceintes de phénotype RhD négatif. Plus récemment, des plates-formes spécialisées de génotypage ont été développées et commercialisées. Elles reposent sur l'utilisation de « puces à ADN » (*microarrays*), c'est-à-dire de surfaces (verre, silicium, plastique) sur lesquelles sont fixées de multiples sondes de capture (oligonucléotides de synthèse), chacune étant spécifique d'une séquence cible d'ADN (ou ARN) que l'on souhaite identifier. Ces systèmes proposent parallèlement des génotypages portant sur les polymorphismes de groupes érythrocytaires, plaquettaires et leucocytaires. Des évaluations faites sur plusieurs milliers de donneurs de sang et de malades ont été effectuées avec ces plates-formes, mais des progrès sont encore nécessaires en termes de débit (actuellement de l'ordre de 7 000 à 8 000 SNP par jour) et surtout d'automation pour la mise en place d'un génotypage de masse.

Génotypage RHD fœtal

La première application médicale du génotypage de groupe sanguin a été la détermination du génotype *RHD* fœtal chez les femmes enceintes de phénotype RhD négatif. Si le fœtus est RhD positif, les mères déjà immunisées (présence d'anti-D) ont un risque de développement de maladie hémolytique du nouveau-né (MHNN) et celles non immunisées un risque de développer une allo-immunisation anti-D. La détermination du génotype *RHD* fœtal en début de grossesse présente donc un intérêt majeur, d'une part pour le suivi médical de la grossesse, d'autre part pour la prévention de l'allo-immunisation par immunoprophylaxie (administration d'immunoglobulines anti-D) chez les mères non immunisées. Les premiers tests de génotypage ont été fondés sur l'amplification, par PCR conventionnelle ou en en temps réel, de différentes régions du gène *RHD* à partir de cellules fœtales obtenues par amniocentèse ou choriocentèse. Avec la découverte d'ADN fœtal circulant dans le plasma maternel, un diagnostic non invasif

a été mis en place, reposant essentiellement sur l'amplification de deux ou plusieurs exons du gène *RHD*, permettant la détection de nombreux variants, dont le pseudogène *RHDψ* fréquent chez les femmes d'origine africaine de phénotype RhD négatif. Une trousse de génotypage est actuellement disponible (Institut de biotechnologies J. Boy SA, Reims).

Plate-forme BioArray : la technologie BeadChip®

Dans cette plate-forme développée par BioArray Solutions/Immucor (États-Unis), la puce à ADN (BeadChip®) est composée de microsphères de polystyrène intégrant un code couleur d'identification, sur lesquelles sont greffées des oligonucléotides (sondes) contenant, en position 39, un nucléotide spécifique d'allèle (selon les SNP à analyser). Après extraction de l'ADN de l'échantillon et PCR multiplexée, les produits de PCR sont hybridés sur la puce, et l'on procède à une réaction d'élongation d'amorces avec des désoxyribonucléotides triphosphates (dNTP) fluorescents (il n'y a pas d'élongation en cas de mésappariement entre la sonde sur la bille et le produit de PCR). La fluorescence sur les billes est ensuite analysée quantitativement à l'aide d'un microscope à fluorescence et d'un logiciel d'interprétation (SNP négatif ou bien positif — homozygote ou hétérozygote), permettant de prédire le « phénotype » à partir des résultats de SNP.

Plusieurs BeadChips® sont disponibles. La BeadChip® HEA 1.2 (*Human Erythrocyte Antigen-2*) détecte 42 allèles, incluant 7 allèles *RH* et 35 SNP portant sur les systèmes KEL, JK, FY, MNS, CO, DO, LU, LW, SC. Une BeadChip® *RHCE* (31 allèles) et une BeadChip® *RHD* (29 allèles) sont désormais validées. D'autres sont en cours d'étude.

Plate-forme Progenika : la technologie BloodChip®

Dans la plate-forme développée par Progenika (Espagne), la puce à ADN (BloodChip®) est composée d'une lame de verre sur laquelle des oligonucléotides spécifiques d'allèles (sondes) sont déposés à haute densité. Après extraction de l'ADN à analyser et PCR multiplexée, les produits d'amplification sont marqués par un traceur, puis hybridés sur la puce. Les hybrides formés entre les sondes et les amplicons de séquence complémentaire sont révélés par mesure quantitative de la fluorescence à l'aide d'un scanner laser confocal. Un logiciel d'interprétation permet de prédire le « phénotype » à partir des résultats de SNP. La BloodChip® version 2 analyse 152 allèles, dont 10 allèles ABO, 108 allèles RHD, 9 allèles RHCE et 25 allèles divers (KEL, JK, FY, MNS, CO, DO).

Plate-forme *GenomeLab SNPstream*®

Cette plate-forme commercialisée par Beckman-Coulter (États-Unis) est utilisée de longue date pour la détection de 12 à 48 SNP dans chacun des 384 puits d'une microplaque. La technique repose sur la détection des amplicons par une réaction d'extension d'une seule base nucléotidique marquée par un fluorophore, suivie d'une analyse d'image.

Le futur du génotypage

L'utilisation de plates-formes de génotypage devrait se développer à court terme. Cependant, des études à grande échelle sont nécessaires pour mesurer leur impact biologique (précision du génotypage) et économique, par comparaison avec les techniques sérologiques. En outre, des progrès dans l'automation de ces systèmes sont requis pour une utilisation en routine dans les centres importants.

Des « puces à protéines » composées d'anticorps monoclonaux, de protéines recombinantes purifiées ou de peptides de synthèse greffés sont aussi en cours de développement. Ces puces pourraient être utiles pour le phénotypage ou la recherche et l'identification d'anticorps contre des antigènes cellulaires (globules rouges, plaquettes, leucocytes) présents dans des fluides biologiques.

Parallèlement à ces développements, des progrès technologiques considérables dans le domaine du séquençage parallèle à ultra-haut débit de courtes séquences d'ADN voient actuellement le jour. Par exemple, le séquençage direct en parallèle de molécules d'ADN individuelles (sans amplification PCR), associé à de puissants outils bio-informatiques, développé par Helicos Biosciences, peut générer 100 gigabases de séquences par heure (soit un génome humain toutes les quatre minutes !). Ces technologies sont encore très onéreuses, mais laissent penser que le séquençage d'un génome complet pourrait être réalisable à un coût raisonnable dans un avenir relativement proche. Des techniques de séquençage faisant appel à des nanotechnologies sont également en cours d'étude. L'une repose sur un instrument à très haut débit capable d'identifier de manière séquentielle, grâce à leurs propriétés physiques et électriques, les nucléotides d'une molécule d'ADN simple brin (isolée sans technique d'amplification) lors de sa translocation à travers un nanopore. Les applications à la biologie et à la médecine prédictive, incluant les problématiques de détection de tout type de génotypage ou de séquences exogènes (pathogènes), en particulier dans le domaine transfusionnel, sont considérables, mais les problèmes éthiques qu'elles entraînent le sont également.

Détection des agents transmissibles par le sang

Technologies actuelles

Ces dernières années, les tests de dépistage des agents transmissibles par le sang ont constamment évolué, avec l'apport de nouvelles techniques de biologie moléculaire et d'automates. Le dépistage génomique viral (DGV), qui est fondé sur la technique de PCR, est le parfait exemple d'une telle évolution technologique, aujourd'hui mise à profit pour la détection des virus VIH, VHC et VHB. Si le risque de transmission d'agents pathogènes connus par transfusion est désormais maîtrisé, les laboratoires de qualification

biologique des dons de sang doivent maintenir une veille épidémiologique et technologique permanente, pour répondre le plus rapidement possible à l'émergence d'agents nouveaux, tels que les virus West Nile ou chikungunya.

Les tests immunologiques de type ELISA, en format de microplaques à 96 puits, ont conduit à des avancées technologiques de robotisation et d'intégration des méthodes de dépistage, apportant un gain de rapidité, de qualité et de sécurité. Puis l'évolution des automates d'analyse, la succession de générations de tests sérologiques ont constamment amélioré la sensibilité et la spécificité des tests. Lorsque les performances des tests sérologiques semblaient atteindre leurs limites, la PCR a permis, dès 2001, la détection directe des génomes du VIH et du VHC puis, à partir de 2010, du VHB. Cette technologie, associée au développement de nouveaux automates capables d'effectuer des tests en multiplexage, a constitué une étape marquante du dépistage viral en transfusion.

Technologies du futur

Demain, c'est vers les nanotechnologies que les tests de dépistage sanguins évolueront, conduisant à de nouveaux bouleversements techniques. Les nanotechnologies utilisent des supports dont les propriétés physiques, chimiques et biologiques sont façonnables à l'échelle nanométrique (un milliardième de mètre). Les nano-objets sont assemblés à l'échelle moléculaire et présentent des caractéristiques qui ouvrent la voie vers des applications nouvelles, y compris dans le domaine du dépistage des agents infectieux. Il s'agit, en fait, d'une avancée importante vers la miniaturisation, dont l'objectif à long terme est bien la détection, dans un échantillon de sang, d'une particule virale, d'une cellule bactérienne ou d'un parasite.

Dans l'évolution technologique générale vers la miniaturisation, le développement des biopuces à ADN a joué un rôle pionnier. La nature des matériaux utilisés dans l'assemblage des puces à ADN est variable : elles peuvent être en verre, silicium ou carbone. L'acide nucléique recherché, ADN ou ARN, est en général marqué par une molécule fluorescente après amplification par PCR. Il est ensuite retenu par la puce qui porte à sa surface un oligonucléotide parfaitement complémentaire, puis détecté par mesure du signal de fluorescence à l'aide d'un scanner couplé à un logiciel d'analyse de données. Les puces à ADN sont donc des supports sur lesquels on peut théoriquement greffer des sondes capables de détecter des centaines, voire des milliers, de cibles distinctes. Sur une seule puce pourraient ainsi être groupées des sondes spécifiques de l'ensemble des pathogènes transmis par le sang, et, pour une espèce microbienne, plusieurs sondes différentes pourraient être implantées afin d'optimiser la sensibilité et la spécificité du test, ou permettre l'identification de variants d'une espèce donnée. Cette technique très puissante présente toutefois des limites dans son application vers

le multiplexage, car elle repose sur la technique de PCR, laquelle supporte mal l'association d'un grand nombre de couples d'amorces nucléotidiques dans la réaction d'amplification.

Les nanotechnologies sont également au centre du concept de laboratoire sur puce, qui prévoit l'intégration de tout un système analytique sur une puce de quelques millimètres. Dans un tel dispositif, tous les composants, chimiques, biologiques et électroniques, sont miniaturisés. Le volume d'échantillon biologique à analyser est également réduit à quelques microlitres, et les instruments de laboratoire sont remplacés par un circuit microfluidique permettant la préparation et le stockage des échantillons, ainsi que toutes les étapes d'analyse jusqu'au résultat. Dans le domaine du dépistage des agents infectieux, un laboratoire sur puce devrait permettre d'effectuer une analyse en moins d'une heure et de rechercher la présence de plusieurs dizaines de micro-organismes. On conçoit les intérêts scientifiques et économiques d'un tel système. Si les problèmes techniques d'aujourd'hui, tels que ceux rencontrés dans le contrôle des mouvements microfluidiques, peuvent être résolus dans un futur proche, le champ d'application peut s'ouvrir à de nombreux domaines, autres que celui du dépistage des agents infectieux, à des coûts d'exploitation relativement modérés si on considère que les volumes de réactifs, la taille des dispositifs et des espaces de laboratoire seront considérablement réduits.

L'utilisation de biocapteurs constitue une voie d'investigation prometteuse, par exemple pour la détection des agents infectieux. Le principe du biocapteur consiste en la transformation d'un phénomène biologique en signal physiquement mesurable. Dans un biocapteur, l'interaction d'un micro-organisme avec l'élément de reconnaissance du biocapteur peut être transformée, par l'élément transducteur, en signal quantifiable (électrique, optique ou calorimétrique). Cette technique est déjà couramment utilisée en recherche : il s'agit de la résonance plasmonique de surface, un phénomène physique principalement connu pour son utilisation comme méthode générale de mesure de la liaison d'un ligand à un récepteur adsorbé sur une surface métallique. Le dispositif mesure la variation de l'indice de réfraction au voisinage de la surface métallique, quand le ligand se fixe au récepteur. La surface métallique peut, par exemple, être fonctionnalisée avec des anticorps spécifiques d'un micro-organisme. Un tel capteur biologique est en fait adaptable à de nombreux analytes, sans recourir à des marqueurs fluorescents spécifiques. Cette technique a été utilisée avec succès pour la détection de bactéries dans le cadre de projets de biosécurité.

Les nanocristaux fluorescents représentent un autre champ d'innovation technologique pour le dépistage d'agents infectieux. Ils sont de taille nanométrique, semi-conducteurs, composés de cadmium ou de sélénium, et ont la propriété, en réponse à l'absorption de lumière ultraviolette, d'émettre des photons dans un spectre étroit dont la longueur d'onde dépend de leur

composition physico-chimique et de leur diamètre. Les nanocristaux peuvent donc couvrir toute la palette des couleurs, ouvrant la voie au multiplexage en associant chaque couleur à une sonde spécifique. En excitant les nanocristaux fluorescents avec une seule source lumineuse, on peut donc quantifier les marqueurs associés à chaque couleur. Les billes peuvent être couplées à des séquences d'ADN pour la détection simultanée de différentes séquences cibles complémentaires dans un échantillon biologique.

Les tests miniaturisés à code-barres, dits « Bio-Barcode », associent des particules magnétiques et des billes d'or pour la détection ultrasensible de protéines ou d'acides nucléiques. Pour la détection d'une cible, par exemple un ADN viral, la bille magnétique porte un oligonucléotide spécifique d'une séquence de cet ADN viral. La bille d'or porte un oligonucléotide spécifique d'une séquence distincte du même ADN viral et de multiples copies d'un oligonucléotide de séquence non virale servant de code-barres. Après incubation des billes avec l'échantillon, les complexes formés par l'association bille magnétique-ADN viral-bille d'or sont capturés dans un champ magnétique, et l'identité de l'ADN viral révélé par lecture de l'oligonucléotide code-barres associé à la bille d'or. Ce système peut être décliné pour la détection de protéines, en associant un anticorps monoclonal spécifique d'un épitope de cette protéine aux billes magnétiques, et un second anticorps, spécifique d'un autre épitope de la protéine cible, associé aux billes d'or portant les oligonucléotides code-barres. Des études récentes ont démontré la faisabilité de ce concept pour la détection de la protéine de capside du VIH, ainsi que pour la détection d'acides nucléiques du VHB, du virus Ebola et du VIH.

Les techniques de séquençage à haut débit, maintenant couramment utilisées dans les laboratoires de recherche à un coût abordable, ne manqueront pas d'impacter positivement la sécurité transfusionnelle en permettant dans un premier temps l'identification d'agents infectieux émergents ou de formes variantes d'agents connus, puis, dans un avenir plus lointain, en intégrant l'arsenal des laboratoires de dépistage.

Plusieurs innovations scientifiques et technologiques récentes, comme celles citées ci-dessus en exemple, auront donc des répercussions certaines dans le dépistage des agents transmissibles par le sang, mais à une échéance encore incertaine. Retenons que les progrès les plus marquants des dernières années portent essentiellement sur la miniaturisation des dispositifs de dépistage, la sensibilité accrue des détecteurs, et l'évolution constante vers des systèmes de criblage multiplexés, ultrasensibles à haut débit.

L'ère de la post-génomique

À l'ère « génomique », caractérisée par le séquençage du génome humain et de celui d'autres espèces modèles (levure, amibe, algue verte, ver, drosophile, souris, etc.), a succédé une ère « post-génomique » (ou de « génomique fonctionnelle »)

ayant pour objectif la caractérisation des produits de ces gènes, les ARN messagers et les protéines elles-mêmes. L'étude à grande échelle des ARNm d'une cellule, traduisant les gènes actifs, définit le « transcriptome », et celui des protéines le « protéome ».

Transcriptome et protéome

L'une des techniques d'étude du transcriptome fait appel à des puces à ADN, sur lesquelles sont fixés, à haute densité, tous les ADNc (ou oligonucléotides sondes) que l'on souhaite étudier. Ces puces sont hybridées avec les ARNm (marqués par un traceur) extraits des tissus ou des cellules en cours d'étude, et les hybridations détectées par fluorescence sont analysées, comme décrit plus haut, pour le génotypage. En pratique, ce sont surtout des analyses comparatives qui sont effectuées, par exemple en comparant une cellule avant et après traitement par un agent inducteur de la différenciation.

Les études de protéomique sont complexes, car elles impliquent la mise en évidence d'isoformes et de modifications post-traductionnelles (glycosylation, phosphorylation, etc.) de protéines dont le niveau d'expression peut être très variable, ainsi que de protéines portant des mutations ponctuelles. La protéomique qualitative permet de dresser la liste des protéines exprimées, à un instant donné, dans une cellule ou un tissu. L'une des méthodologies utilisées se décompose en plusieurs étapes : extraction des protéines à analyser, séparation des protéines par électrophorèse bidmensionnelle (selon le point isoélectrique et la masse) ou chromatographie en phase liquide, identification et caractérisation de chaque protéine, réalisée par spectrométrie de masse, procédé au cours duquel la protéine subit une digestion enzymatique partielle, et les fragments peptidiques sont analysés selon leur masse par comparaison à des spectres de peptides répertoriés dans des banques de données.

À la dimension qualitative de ces études il convient d'associer une dimension quantitative, appréciant le niveau d'expression des protéines, mais les techniques utilisables (par exemple le marquage par des isotopes lourds) restent difficiles à mettre en œuvre. Par ailleurs, le coût et la complexité des technologies et de l'instrumentation restent des facteurs limitants à l'expansion de ces techniques.

En matière de transfusion sanguine, les techniques de protéomique peuvent être mises en œuvre pour étudier les protéines présentes dans divers produits sanguins (plasma et dérivés, globules rouges, plaquettes, cellules souches hématopoïétiques) et pour analyser les modifications éventuelles consécutives à la purification et à divers traitements, dont l'inactivation des pathogènes, ou bien celles apparaissant pendant la période de stockage et pouvant avoir un effet négatif sur l'efficacité thérapeutique. L'étude de microvésicules relarguées par divers types cellulaires lors des

phases de remodelage cellulaire ou d'apoptose présente aussi un grand intérêt en tant que marqueurs de l'activation ou de la dégradation cellulaire et d'effecteurs transcellulaires, en relation avec la survenue de réactions inflammatoires ou d'événements thrombotiques. Le développement de ces études comporte des difficultés (liés notamment à la présence abondante de certaines protéines) mais pourrait conduire à une amélioration des procédés jalonnant la préparation et la conservation des produits sanguins visant à accroître leur qualité, leur sécurité et leur efficacité.

Métabolome

Ce type de développement concerne la recherche de métabolites dans un échantillon biologique et les études physiologiques de leur synthèse. Il fait largement appel à des techniques reposant sur la spectrométrie de masse ou la résonance paramagnétique nucléaire. Il se combine avantageusement avec d'autres méthodologies de génomique fonctionnelle (transcriptome, protéome). Parmi les applications, figure la possibilité de rechercher et d'analyser la répartition des molécules dans des tissus ou du sang, pouvant déboucher sur l'identification de marqueurs spécifiques d'un état physiologique normal ou pathologique. Des études visant à améliorer les conditions de conservation des concentrés globulaires ont été publiées récemment.

13 Enseignement de la transfusion et connaissances requises

Organisation des enseignements de la transfusion sanguine

La transfusion des produits sanguins labiles (PSL) préparés par les établissements de transfusion sanguine, regroupés au sein de l'Établissement français du sang (EFS) est un acte qui implique le personnel médical et infirmier. Dans le cursus de la formation des infirmiers, un module d'enseignement de la transfusion sanguine est organisé dans les différents instituts de formation en soins infirmiers (IFSI). La formation médicale est assurée par les unités de formation et de recherche (UFR) de médecine, et se divise en deux étapes : la formation initiale et les formations spécialisées.

Formation initiale

Selon les maquettes pédagogiques, l'enseignement de la transfusion se déroule durant le premier cycle et/ou et le deuxième cycle des études médicales. Il est limité aux données essentielles de la transfusion sanguine. Le Collège des enseignants de la transfusion sanguine a actualisé les données permettant de répondre aux minimums requis pour l'exercice médical. Le CIUTS a été créé à la fin des années 2000 par l'université Pierre-et-Marie-Curie et l'INTS.

Formations spécialisées

- Diplômes d'études spécialisées : avant la publication du nouveau DES d'hématologie, le diplôme d'études supérieures complémentaires (DESC) en hémobiologie-transfusion est le seul diplôme intégré dans le cursus des études spécialisées qui correspond à la transfusion sanguine. L'enseignement de la transfusion sanguine est dispensé dans plusieurs DES : anesthésie-réanimation, biologie, hématologie-oncologie, etc.
- Diplômes spécifiques aux acteurs de la transfusion sanguine (tableau 13.1) :
  - la *Capacité en technologie transfusionnelle* (CTT) est le premier niveau de spécialisation dans le domaine transfusionnel. Elle permet aux médecins d'acquérir une formation générale sur l'ensemble de l'activité transfusionnelle, avec 120 heures d'enseignement théorique et un stage appliqué de 40 demi-journées ;

© 2015 Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

Tableau 13.1. Différents diplômes destinés aux professionnels de la transfusion sanguine.

Diplômes	Durée	Professions concernées
Capacité en technologie transfusionnelle (CTT)	Deux années (160 heures d'enseignement théorique et 40 demi-journées de stage pratique au cours de la deuxième année)	Médecins
Diplôme universitaire de transfusion sanguine (DUTS)	Une année (190 heures d'enseignement théorique et de travaux pratiques)	Médecins, pharmaciens, scientifiques
Diplôme d'études spécialisées complémentaires (DESC)	Une année d'enseignement théorique et de travaux pratiques + quatre semestres de stage pratiques	Internes en médecine
Diplôme interuniversitaire « Principes thérapeutiques en technologie transfusionnelle » (D3Ti)	Une année (110 heures d'enseignement théorique et pratique)	Médecins, pharmaciens, scientifiques et paramédicaux
Diplôme universitaire de formation aux normes de qualité (DUQ)	Une année (170 heures comprenant des cours théoriques, des enseignements dirigés et pratiques, et de stages ou exercice professionnel.)	Médecins, pharmaciens, scientifiques, responsables qualités et toute personne impliquée dans la maîtrise des normes d'accréditation et l'évaluation technique des laboratoires

– le *Diplôme universitaire de transfusion sanguine* (DUTS), délivré en premier lieu par l'université Paris VI, s'adresse aux médecins, pharmaciens, internes et titulaires d'une maîtrise de sciences ou de biologie humaine. Il correspond à un enseignement théorique de 240 heures et à un enseignement appliqué sous forme de travaux pratiques. Il peut également être obtenu par la validation de douze unités de valeur (UV) délivrées par l'Institut national de la transfusion sanguine (INTS) et l'université Paris VI ;
– le *Diplôme d'études spécialisées complémentaires* (DESC) *d'hémobiologie-transfusion* se déroule sur deux années, dont une année de formation théorique (200 heures) et quatre semestres de formation pratique dans des services agréés. Pour s'inscrire au DESC, un interne doit avoir validé au moins six semestres au cours d'un DES ;
– le *Diplôme interuniversitaire de technologie thérapeutique transfusionnelle* (D3Ti) regroupe trois universités principales organisatrices (Paris VI, Paris VII et université Jules-Verne d'Amiens) et sept universités participantes (Paris XI, Paris XIII, Paris Ouest, Rennes I, Nantes, Bordeaux II, Lille II). Il comprend réglementairement un tronc commun d'au moins

cinq modules et deux options dédiées l'une à l'hémovigilance, l'autre aux responsables de dépôts de sang. Un stage de terrain est organisé en fonction de l'objectif professionnel. Il s'adresse aux hémovigilants et aux responsables de dépôts de délivrance ;

– le diplôme universitaire intitulé *Formation aux normes de qualité en vigueur applicables aux laboratoires de biologie médicale* s'adresse aux biologistes responsables de toute activité analytique pour la mise en œuvre des normes d'accréditation et d'évaluation techniques en laboratoire. En lui-même, il dépasse largement le domaine transfusionnel et accueille des biologistes d'autres disciplines.

Les détails de chacun de ces enseignements sont présentés dans l'encadré ci-après.

L'Institut national de la transfusion sanguine (INTS) et l'université Paris VI ont établi une base de cours délivrés sur 30 jours pleins et qui constitue le contenu de chacun des diplômes que tout candidat souhaite valider : il s'agit là d'une véritable formation « à la carte ». En outre, l'INTS a conforté l'association entre formation universitaire et formation continue, créant des liens entre l'université et la capacité de chacun à actualiser ses connaissances tout au long de sa carrière professionnelle.

Les universités de la région Est de la France se sont associées pour proposer une formation en transfusion, de même que l'université de la Méditerranée.

Se profile désormais un projet de constitution d'un enseignement de la transfusion fédéré à l'échelon européen et destiné à l'ensemble des professionnels de la discipline. Cet enseignement devrait être placé sous l'égide de l'*EuroNet Transfusion Medicine Society* (EuroNet-TMS).

Formations spécialisées

Cursus intégré universitaire en transfusion sanguine (CIUTS) Les différents enseignements et diplômes en transfusion sanguine

Organisé par les universités René-Descartes Paris V, Pierre-et-Marie-Curie Paris VI, Denis-Diderot Paris VII et Picardie Jules-Verne (Amiens), pour l'obtention d'un ou des diplômes suivants :

- capacité en technologie transfusionnelle (CTT) ;
- diplôme universitaire de transfusion sanguine (DUTS) ;
- diplôme d'études spécialisées complémentaires en hémobiologie-transfusion (DESC) ;
- diplôme interuniversitaire « Principes thérapeutiques en technologie transfusionnelle » (D3Ti) ;
- diplôme universitaire « Formation aux normes de qualité en vigueur applicables aux laboratoires de biologie médicale ».

▷

Les universités associées à l'INTS organisent un cursus intégré universitaire en transfusion sanguine, lequel comporte 25 modules d'enseignement. Chaque diplôme, du fait de sa spécificité et des objectifs recherchés, se compose d'un certain nombre de modules choisis au sein du cursus global du CIUTS. Le CIUTS est unique en Europe. Certains diplômes peuvent faire l'objet de modules acquis par l'intermédiaire de la formation continue.

Capacité en technologie transfusionnelle (CTT) (UFR de médecine Pierre-et-Marie-Curie Paris VI)

La CTT est un diplôme national permettant aux médecins (thèse obligatoire) non internes (non titulaires d'un DES ou d'un DESC) d'exercer des fonctions de responsabilité au sein des établissements de transfusion sanguine ou structures hospitalières. Les demandes d'inscription doivent être faites auprès de l'UFR de médecine Pierre-et-Marie-Curie (Paris VI). Après avoir obtenu une autorisation pédagogique par le responsable des enseignements, la CTT se prépare en deux années (deux inscriptions) et inclut deux types d'enseignement :

- un enseignement théorique comportant cours et enseignements dirigés sur les thèmes suivants : présentation générale, technologie transfusionnelle, médecine transfusionnelle, ingénierie cellulaire, gestion administrative et financière, etc. ;
- un enseignement pratique : les stages, répondant à des objectifs définis préalablement, sont effectués dans des établissements de transfusion sanguine ou des laboratoires associés aux activités transfusionnelles. Ils sont validés sur un rapport du responsable de stage et un compte rendu présenté au jury par le candidat.

Diplôme interuniversitaire de transfusion sanguine (DUTS) (UFR de médecine Pierre-et-Marie-Curie Paris VI et René-Descartes Paris V)

Le DUTS est délivré par l'UFR de médecine Pierre-et-Marie-Curie Paris VI et, depuis la rentrée 2014, par l'UFR de médecine René-Descartes Paris V, à l'issue d'un enseignement dispensé à l'INTS. Il s'adresse aux :

- futurs cadres médicaux, paramédicaux et scientifiques des établissements de transfusion ;
- prescripteurs de produits sanguins ;
- docteurs en médecine français (thèse soutenue) ;
- pharmaciens français (étrangers sur dérogation) ;
- internes en médecine ou en pharmacie inscrits à un DES ;
- titulaires d'un diplôme de docteur en médecine d'un pays étranger, permettant d'exercer la médecine dans ce pays ;
- docteurs ès sciences ;
- titulaires d'une maîtrise de sciences ou de biologie humaine.

Les médecins et pharmaciens français titulaires du CES (ou DES) d'hématologie sont dispensés du probatoire. L'enseignement comporte une partie théorique

incluant cours et enseignements dirigés, et une partie pratique obligatoire. L'inscription est délivrée après un entretien probatoire.

Diplôme d'études spécialisées complémentaires d'hémobiologie-transfusion (DESC) (Faculté de médecine Pierre-et-Marie-Curie Paris VI)

Le DESC d'hémobiologie-transfusion est destiné aux internes ou anciens internes souhaitant se spécialiser dans la discipline. Ce diplôme national se déroule sur quatre semestres. Le programme du DESC inclut celui du DUTS. Il se répartit sur deux années et requiert deux inscriptions, dont une obligatoirement pendant la dernière année d'internat. L'enseignement comporte les sujets suivants : immunogénétique ; histocompatibilité-greffes ; physiologie et physiopathologie de la transfusion ; technologie de la transfusion ; thérapeutique transfusionnelle ; socio-économie de la transfusion. Les enseignements ont lieu tous les vendredis et comportent des cours, des travaux pratiques et des enseignements dirigés. Les épreuves écrites portent sur chacun des sujets. La formation pratique doit être effectuée dans un service agréé pour le DESC, et les fonctions remplies par le candidat doivent être parmi les suivantes : chef de clinique des universités-assistant des hôpitaux ; assistant hospitalier universitaire ; assistant et assistant associé des hôpitaux ; faisant fonction d'interne ; attaché et attaché associé effectuant au moins six vacations hospitalières hebdomadaires dans un service agréé ; praticien hospitalier.

Diplôme interuniversitaire « Principes thérapeutiques en technologie transfusionnelle » (D3Ti) (Faculté de médecine Pierre-et-Marie-Curie Paris VI, Denis-Diderot Paris VII, René-Descartes Paris V et université de Picardie Jules-Verne, Amiens)

La formation en transfusion sanguine au cours des études médicales est trop sommaire pour les praticiens qui auront une activité dans ce domaine. Compte tenu des évolutions scientifiques et réglementaires, une formation complémentaire est nécessaire. Le D3Ti s'adresse de façon prioritaire aux acteurs de la transfusion exerçant dans les établissements de santé (ou dans certaines activités des établissements de transfusion) et ayant des activités dans le domaine de l'hémovigilance ou la responsabilité d'un dépôt de sang de délivrance des PSL. Ce diplôme est qualifiant pour les responsables de dépôts de délivrance (arrêté du 3 décembre 2007). Sont autorisés à s'inscrire, après un probatoire réalisé sous forme d'entretien : les titulaires du diplôme français d'État de docteur en médecine ou en pharmacie ; les étudiants inscrits aux DES de médecine, de chirurgie ou de biologie, ainsi que les titulaires de ces diplômes ; les titulaires d'un doctorat ès sciences de la vie et de la santé ou d'un diplôme reconnu équivalent selon les critères de l'UE et après avis des coordonnateurs de l'enseignement.

Les études se déroulent sur une année universitaire et comportent 70 heures de cours réparties sur des enseignements obligatoires (une journée par mois) et des enseignements optionnels, l'un étant orienté vers l'hémovigilance, l'autre étant destiné aux responsables de dépôts de sang (une semaine complète).

▷

À l'enseignement théorique s'ajoute un stage d'une durée totale de dix demi-journées. La présence aux cours est obligatoire et seuls les étudiants assidus pourront se présenter à l'examen, qui ne comporte qu'une seule session. Cet examen écrit inclut des questions courtes portant sur l'étendue du programme et une question rédactionnelle à choisir sur les deux proposées concernant les options. L'examen oral porte sur des situations cliniques (le candidat devra exposer les problèmes et les méthodes de médecine transfusionnelle). En cas d'échec à l'examen, un seul redoublement est autorisé. En 2014, une demande a été faite auprès des Doyens pour que ce DIU soit ouvert aux paramédicaux avec une semaine optionnelle spécifique. Il est éligible au titre du DPC.

Diplôme universitaire « Formation aux normes de qualité en vigueur applicables aux laboratoires de biologie médicale »

Cette formation a pour objectif la maîtrise des normes concernées et le contrôle de leur bonne application, principalement l'exercice de l'audit (ISO 19011), l'évaluation technique (ISO 15189-ISO/CEI 17025-ISO 22870), la validation initiale et continue des méthodes d'analyse en biologie médicale, les analyses de risques et calcul des incertitudes de mesures, la métrologie en biologie médicale. Il s'agit d'acquérir la formation et l'expérience pratique de la mise en place d'une accréditation au sein d'un laboratoire et d'en assurer la pérennité, à travers notamment les évaluations imposées par la réglementation et les documents d'application du COFRAC. Les professionnels concernés sont les suivants : biologistes (pharmaciens, médecins), responsables qualité et tous les personnels impliqués dans la mise en œuvre des normes d'accréditation et l'évaluation technique en laboratoire. Le volume horaire global de formation est de 140 heures, incluant 84 heures de cours théoriques, 28 heures d'enseignements dirigés et pratiques, 28 heures de stage ou expérience professionnelle, avec un mémoire en fin de stage. L'enseignement se déroule en quatre modules : un module de management (trois jours), un module de mise en place des exigences techniques des normes d'accréditation (huit jours), un module d'évaluation des laboratoires (cinq jours), un module d'évaluation croisée sur site entre participants, avec réalisation d'une expertise technique (quatre jours).

Les supports pédagogiques comprennent l'intégralité des cours théoriques sur supports papier et dématérialisés, des documents d'applications issus des expériences pratiques réussies des formateurs, et des données bibliographiques dans la mesure où elles sont gratuites. Les méthodes pédagogiques incluent des exposés, des enseignements dirigés, des stages pratiques et un mémoire.

Les conditions d'inscription sont un diplôme de docteur en médecine ou en pharmacie avec DES ou CES, la qualification en biologie médicale ou habilitation à la signature dans certains domaines spécialisés ; les diplômes reconnus en management de la qualité dans le domaine de la santé, au minimum du niveau maîtrise. Ce DU est éligible au titre du DPC.

Formation continue

La formation continue est un outil essentiel au développement des activités, à tous les niveaux de la chaîne transfusionnelle, tant dans les établissements de transfusion que dans les services cliniques, les laboratoires et les structures de vigilance. Cette formation est assurée par différents opérateurs, notamment la Société française de transfusion sanguine (SFTS). L'INTS propose diverses unités de valeur et des stages pratiques, pour la formation des personnels, mais aussi de l'encadrement. Le détail de ces unités de valeur peut être consulté sur le site Internet de l'INTS (www.ints.fr). Dès 2004, la Haute Autorité de santé (HAS) a été en charge de la formation et de l'évaluation au niveau national pour l'ensemble du monde de la santé. Cependant, la loi HPST de 2009 a modifié sensiblement cette organisation et introduit le développement professionnel continu (DPC) opposable à tout professionnel de santé.

Il est important de considérer que, désormais, la formation professionnelle tout au long de la vie doit impliquer tous les acteurs de la transfusion : médecins, pharmaciens, biologistes, scientifiques, sages-femmes, infirmières, techniciens… L'objectif de la formation continue est d'impliquer tous ces professionnels dans une démarche d'amélioration continue de la qualité de l'exercice de leur profession. Elle doit stimuler la discussion et le contact, être liée à la pratique, et être facile d'accès, d'une mise en place équitable, tout en n'imposant pas de formalités administratives supplémentaires. Elle offre une garantie de soins de qualité pour ceux qui bénéficient de la transfusion et doivent savoir que le praticien qui les prend en charge a subi une évaluation par un professionnel indépendant, et que le suivi de cette formation reflète sa préoccupation de la qualité de sa pratique.

De nombreux professionnels se sont inscrits à des programmes pilotes d'évaluation, avant que la formation professionnelle devienne obligatoire. Diverses méthodes sont utilisées pour satisfaire à l'obligation de cette formation, avec des stratégies adaptées à chaque type de pratique professionnelle (statut public ou privé, structure hospitalière ou non hospitalière) et applicables au sein de systèmes individuels ou collectifs (les méthodes d'évaluation collectives demeurant toutefois privilégiées). En juillet 2009, le ministre de la Santé a présenté un projet de réforme hospitalière, impliquant une modernisation globale du système de santé français et des solutions à des enjeux aussi importants que l'accès aux soins pour tous, l'interaction entre la médecine ambulatoire, les hôpitaux et les structures de santé, l'amélioration des soins et une coordination globale du système de santé. Ainsi, conformément à l'article 19 de la loi HPST, la formation professionnelle tout au long de la vie consiste en l'évaluation des pratiques, l'amélioration des connaissances, l'amélioration de la qualité et de la sécurité des soins médicaux, l'examen des priorités de santé publique et un contrôle médical

axé sur les dépenses de santé. Initialement obligatoire pour les médecins puis les pharmaciens, la formation professionnelle tout au long de la vie (DPC) est opposable depuis le 1er janvier 2013 à tous les professionnels de santé, en particulier les techniciens, les infirmières et les sages-femmes.

Le nouveau dispositif de développement professionnel continu (désormais dénommé DPC) est piloté par une gouvernance spécifique, véritable conseil national de la formation, assisté d'une commission scientifique indépendante par catégorie professionnelle, afin de garantir la qualité des formations. Chaque discipline ou collège constituera son propre conseil national professionnel (CNP). Dans ce cadre, la Société française de transfusion sanguine, la Société française d'hémaphérèse, la Société française de vigilance et thérapeutique transfusionnelle et la Société française de bioingénierie cellulaire et tissulaire ont créé un Conseil national professionnel commun (le V3TC), dont le secrétariat et l'organisation sont assurés par l'INTS.

Les activités de formation de l'INTS ont considérablement évolué au cours des dernières années, en particulier à travers l'*e-learning*. Proposé dès la fin de 2008 dans le cadre des formations réglementaires liées aux dépôts de sang, ce dernier type de formation connaît un véritable essor avec une formation courte à destination des infirmières concernant l'acte transfusionnel et ses contrôles (EF02), en attendant de nouveaux modules sur d'autres thématiques demandées. L'encadré ci-dessus montre la place prise par ce mode d'enseignement.

Connaissances requises pour l'exercice médical

Dans le cadre de l'actuelle réforme des études médicales, un certain nombre de « connaissances requises » pour l'exercice médical de la transfusion ont été définies sous l'égide du Collège des enseignants en transfusion, dans le cadre d'une coopération entre la Société française d'hématologie et la Société française de transfusion sanguine (les deux disciplines, hématologie et transfusion, étant réunies, sur le plan universitaire, dans une même sous-section du CNU). Ces connaissances requises ont été soumises à une validation par des professionnels et ont fait l'objet d'actualisations régulières : elles ont été diffusées en 2004 sous forme de fiches constituant l'item 178. Avec la réforme du deuxième cycle des études médicales (avril 2013), le tronc commun comprend treize unités d'enseignements (UE) dont onze unités d'enseignement transdisciplinaires regroupant 362 items, une unité d'enseignement de formation générale à la recherche et une unité d'enseignement « Stages et gardes ». L'item 178 devient l'item 325 « Transfusion sanguine et produits dérivés du sang : indications, complications. Hémovigilance », au sein de l'unité d'enseignement 10 « Le bon usage du médicament et des thérapeutiques non médicamenteuses ».

Les objectifs fixés pour cet item 325 sont :
- Expliquer les risques transfusionnels, les règles de prévention, les principes de traçabilité et d'hémovigilance.
- Prescrire une transfusion des médicaments dérivés du sang.
- Appliquer les mesures immédiates en cas de transfusion mal tolérée.

Ces connaissances requises ont été soumises à une validation par des professionnels et font l'objet d'actualisations régulières : elles sont présentées ci-dessous sous forme de fiches d'après Noizat-Pirenne F, Wautier JL, *La revue du praticien*, 2008, 58(6) : 679-685, et ont été actualisées en 2010. Ces nouvelles fiches (2011) ont été validées par le Professeur Philippe Rouger, alors Président de la SFTS et coordonnateur national de l'hémobiologie-transfusion.

ITEM 325 – Fiche 1

Connaître les produits sanguins labiles et les médicaments dérivés du sang utilisés en thérapeutique

Les produits sanguins labiles (PSL)

Ils sont obtenus par séparation primaire des éléments du sang. Leurs caractéristiques communes fixées par arrêté ministériel sont les suivantes. Chaque unité thérapeutique est issue d'un don de sang (ou par aphérèses). Ils comprennent tous un seuil minimal de produit actif et ont une date de péremption indiquée sur la poche. Tous les PSL sont déleucocytés depuis la fin des années quatre-vingt-dix pour limiter le risque d'allo-immunisation HLA, la libération de produits inflammatoires à l'origine des réactions frissons-hyperthermie, le risque de transmission d'agents infectieux intracellulaires et le risque de survenue d'une GVH (réaction du greffon contre l'hôte). Les qualifications infectieuses obligatoires sont vis-à-vis des VIH-1 et 2, HTLV-I et II, hépatites B et C, et syphilis. Les qualifications optionnelles en fonction d'un risque « donneur » se font pour le paludisme et la maladie de Chagas ou autres selon le contexte épidémique. La recherche du CMV permet de disposer d'un stock de produits sécurisés à cet égard. Les PSL préparés contiennent une quantité variable de plasma résiduel (de 20-30 ml en moyenne pour 1 CGR à près de 100 ml pour un CP). Le risque résiduel de transmission de maladies infectieuses virales et parasitaires est faible (mais il persiste un risque relatif de contamination bactérienne) ; la durée de conservation est limitée (de quelques jours à 1 an) ; il existe des règles strictes de conservation, de transport et d'utilisation (règles de compatibilité immunologique). Les PSL doivent être intègres lors de leur délivrance : tout aspect anormal doit conduire à retourner le produit sans le transfuser. Un PSL doit être transfusé dans les 6 heures suivant sa réception au service de soin. Les PSL sont régis par les règles de l'hémovigilance.

Concentrés de globules rouges (CGR)

Le CGR contient au moins 40 g d'hémoglobine, sous un volume d'environ 250 ml avec anticoagulant et solution de conservation. Les CGR se conservent jusqu'à 42 jours (entre 2 à 6 °C).

Il existe des CGR avec qualifications :

– les CGR phénotypés : groupage déterminé pour cinq antigènes, en plus du groupe ABO et RH1 (D) : antigènes RH2, RH3, RH4, RH5 et KEL1 [C, E, c, e et K] ;

– les CGR de phénotype étendu, qui comportent la détermination d'autres antigènes que RH-KEL1 ;

– les CGR compatibilisés par un test de compatibilité au laboratoire entre le sérum du receveur et les hématies de l'unité à transfuser ;

– les concentrés CMV-négatifs, dont le donneur est séronégatif pour le cytomégalovirus ;

– les concentrés irradiés : les rayons gamma sont utilisés pour prévenir la maladie du greffon contre l'hôte transfusionnelle (GVH transfusionnelle).

Il existe des CGR avec transformations : CGR déplasmatisés, irradiés, congelés (conservés à une température inférieure à – 80 °C, CGR de phénotype rare), réductions de volume.

Concentrés de plaquettes (CP)

Le MCP ou mélange de concentrés plaquettaires standard (CPS), systématiquement déleucocyté, est le mélange de CPS issus d'un don de sang total (en général cinq à sept CPS). Il se conserve (entre 20 à 24 °C) durant 5 jours sous agitation constante.

Le CPA ou concentré de plaquettes d'aphérèse déleucocyté provient d'un donneur unique et se conserve aussi 5 jours, de 20 à 24 °C sous agitation constante.

Les CP peuvent avoir des qualifications ou être transformés.

Plasmas thérapeutiques

Le plasma viro-atténué par procédé physico-chimique : solvant détergent (PVA-SD) sur pool de 100 donneurs, bleu de méthylène (PVA-BM désormais interdit d'utilisation), le PVA IA (inactivé par l'amotosalen). Les plasmas se conservent un an congelés et maintenus au-dessous de – 25 °C. Suite à la condamnation de la Cour de justice de l'Union européenne en mai 2013 et par décision du Conseil d'État en juillet 2013, le plasma thérapeutique SD relève à compter du 1er février 2015 des règles des médicaments dérivés du sang et sera dispensé par les pharmacies hospitalières.

Les produits sanguins stables ou « médicaments dérivés du sang » (MDS)

Ils sont extraits (séparation secondaire) de pools de plasma par un fractionnement physico-chimique. Leurs caractéristiques communes sont une conservation longue (1 à 3 ans) et une inactivation des agents pathogènes pendant le processus de fabrication.

Fractions coagulantes

– Facteurs extraits du plasma :
  – plasma SD à compter du 1er février 2015 ;
  – facteur VIII antihémophilique A ;
  – facteur IX antihémophilique B ;

  - facteur Willebrand ;
  - fibrinogène ;
  - complexe prothrombinique (facteurs X, II, VII, IX) ;
  - facteur VII ;
  - facteur XI ;
  - facteur XIII.
- Facteurs produits par génie génétique :
  - facteur VII (activé) ;
  - facteur VIII ;
  - facteur IX.

Immunoglobulines humaines

- Immunoglobulines intraveineuses polyvalentes.
- Immunoglobulines intraveineuses spécifiques : anti-D, anti-HBs.
- Immunoglobulines intramusculaires spécifiques : anti-HBs, antitétaniques, antirabiques.

Albumine

- Albumine humaine à 4 % iso-oncotique.
- Albumine humaine à 20 %.

Autres facteurs dérivés du sang

- Antithrombine III humaine.
- Inhibiteur de la C1 estérase humaine.
- Protéine C humaine.
- Alpha-1-antitrypsine humaine.
- Colle biologique issue du fibrinogène.

Noter d'une part que des produits issus des plaquettes sont des MDS dans certains pays mais pas en France ; d'autre part que l'utilisation de plaquettes autologues pour la réparation de cartilages et tendons est de pratique croissante mais n'est pas sous surveillance de la chaîne transfusionnelle.

ITEM 325 – Fiche 2

Indications des transfusions de produits sanguins labiles en fonction des recommandations de l'Afssaps pour la transfusion de globules rouges d'août 2002 et la transfusion de plaquettes de juin 2003 et les recommandations de l'ANSM-HAS pour la transfusion de plasma thérapeutique actualisées en juin 2012

Transfusion de concentrés de globules rouges (CGR)

L'indication est l'anémie :

- isolée ou associée à un déficit volémique (hémorragie aiguë) ;
- selon la rapidité de son installation, sa tolérance clinique et son évolution immédiate ;

– prise en compte d'un taux d'hémoglobine (7 g/dl) pour les sujets sans antécédents, mais à moduler selon l'âge, la tolérance cardioneurologique, la possibilité d'un traitement étiologique et le rapport risque/efficacité de la transfusion.

Transfusion plaquettaire

Indications :

– traitement préventif et curatif des hémorragies :
  – en cas de thrombopénie centrale : le seuil de 20×10^9 plaquettes par litre (à moduler en fonction de l'existence de facteurs associés de risque hémorragique) est retenu pour déclencher la transfusion ;
  – à l'occasion d'un geste invasif si le taux de plaquettes est inférieur à 50×10^9 par litre (recommandation à 100×10^9 par litre pour les interventions en ophtalmologie et en neurochirurgie) ;

– traitement curatif des hémorragies à risque vital, quelle qu'en soit la cause, en sachant que l'efficacité des transfusions est moindre en cas de thrombopénie périphérique qu'au cours d'une thrombopénie centrale ;

– au cours d'une thrombopathie lors d'actes invasifs ou d'hémorragie.

Indiquer sur l'ordonnance la date et le résultat de la dernière numération plaquettaire, ainsi que le poids et la taille du patient.

Transfusion plasmatique

Indications :

– coagulopathies de consommation grave avec effondrement du taux de tous les facteurs de coagulation ;

– hémorragie aiguë avec déficit global des facteurs de la coagulation ;

– déficit complexe rare en facteur de la coagulation lorsque les fractions coagulantes correspondantes ne sont pas disponibles ;

– on y ajoute l'échange plasmatique dans le purpura thrombotique thrombocytopénique et la microangiopathie thrombotique ou le syndrome hémolytique et urémique.

La transfusion de plasma frais congelé (PFC) n'est recommandée qu'en cas d'association :

– soit d'une hémorragie, soit d'un geste à risque hémorragique ;

– et d'une anomalie profonde de l'hémostase.

Toujours vérifier l'efficacité transfusionnelle

– Pour les CGR : contrôle du taux d'hémoglobine à 24 heures.

– Pour les concentrés de plaquettes : numération plaquettaire à 24 heures, voire à 1 heure en cas de suspicion d'immunisation, recherche d'un état réfractaire (calcul du rendement plaquettaire).

– Pour le plasma, facteurs de coagulation : TP, TCA, complexe prothrombinique.

ITEM 325 – Fiche 3

Énoncer les gestes qui s'imposent avant la mise en œuvre de toute transfusion

Préparer la transfusion

Examen clinique médical précédant un geste invasif pouvant nécessiter une transfusion

– Définir l'indication, la nature du PSL à transfuser et les modalités de la transfusion : probabilité, délais, volume (nombre d'unités), transfusion autologue programmée, pour certains patients particuliers, en cas de besoin transfusionnel pour chirurgie à fort risque hémorragique.

– Rechercher des antécédents, notamment d'allo-immunisation (grossesse, transfusion, greffe) et réactions transfusionnelles.

– Informer le patient ou son représentant légal sur l'éventualité et la nature de la transfusion, sur les risques transfusionnels (avec remise d'un document d'information), sur les possibilités de la transfusion autologue.

– Recueillir le consentement du patient ou de son représentant légal.

– Garder la trace écrite du consentement, du refus ou de l'impossibilité d'informer le patient.

Vérifier et prescrire les examens immuno-hématologiques prétransfusionnels

– Documents de groupage sanguin valides (arrêté du 26 avril 2002), avec double détermination sur deux prélèvements distincts réalisés par deux personnes différentes si possible :

  – groupe ABO-RH1 ;
  – phénotype Rh, K (RH-KEL1).

– Phénotype érythrocytaire étendu, si nécessaire (transfusions itératives, protocoles de greffe) : détermination des antigènes Kidd, Duffy, MNSs.

– Résultat de recherche d'anticorps irréguliers (RAI) datant de moins de 72 heures avant la transfusion, ou datant de moins de 21 jours sur indication formelle du prescripteur et en absence d'antécédents transfusionnels ou d'autres épisodes immunisants (grossesse, greffe) dans les 6 mois précédents.

Prescrire la transfusion

– Prescription de la transfusion par un médecin identifié comme le prescripteur.

– S'assurer de l'information éclairée du malade.

– Vérifier l'exécution et les résultats du bilan prétransfusionnel.

– Rédiger une ordonnance nominative comportant l'identification du malade, du service demandeur, le nom et la signature du médecin prescripteur ; la nature et le nombre de produits demandés ; la date et l'heure de la prescription, la date et l'heure prévue de la transfusion, ainsi que l'indication de la transfusion pour les PFC, le degré d'urgence et le poids du patient et la dernière numération plaquettaire (date, heure) pour prescriptions de plaquettes.

– Joindre un document de groupage sanguin valide et les résultats de RAI de moins de 72 heures ou, en leur absence, acheminer les échantillons de sang permettant d'effectuer ces analyses.

Délivrer les produits sanguins

Ils sont délivrés selon :

– l'ordonnance signée du médecin ;

– les résultats des examens immuno-hématologiques : RAI, épreuve directe de compatibilité si nécessaire ;

– le protocole transfusionnel (en fonction des antécédents et du contexte clinique).

Joindre la fiche de délivrance (FD)

Elle comporte toutes les informations relatives au receveur et au(x) produit(s) sanguin(s) délivré(s), indiquant l'heure de cession des produits (ou remise au personnel assurant le transport).

Réaliser la transfusion

– Délégation possible sur prescription médicale de la réalisation de l'acte transfusionnel à une sage-femme ou un(e) infirmier(e) dont le médecin prescripteur aura vérifié les compétences.

– Vérification à réception de la destination du « colis », de la conformité de la livraison (« vérification du colis »), puis de la conformité des produits livrés par rapport à la prescription.

– Entreposage des produits sanguins dans le service : afin d'éviter toute conservation et risque d'erreur d'attribution, il est recommandé de transfuser dans les meilleurs délais après réception, sans dépasser le délai de 6 heures, et de fractionner les commandes en fonction des besoins du patient.

– Vérifications prétransfusionnelles au lit du malade (unités de lieu, de temps et d'action). Deux étapes :

  – pour tous les PSL, contrôles ultimes de concordance : identification précise du patient ; concordance avec l'identité du patient notée sur l'ordonnance, la FD et le document de groupage sanguin ; concordance du groupe sanguin mentionné sur le document de groupage sanguin du malade avec celui mentionné sur l'étiquette du produit ; concordance des données d'identification du produit notées sur l'étiquette avec celles de la FD ; contrôle de la péremption du PSL ;

  – pour les CGR : contrôle ultime de la compatibilité biologique ABO, selon les modalités d'utilisation du dispositif de contrôle ultime en usage dans l'établissement : prélèvement capillaire du patient et d'une goutte de la poche à transfuser ; vérification des concordances de réactivité : les globules rouges à transfuser ne doivent pas être agglutinés par un réactif n'agglutinant pas les globules rouges du receveur (en cas de moindre doute, ne pas transfuser, demander l'avis d'un collègue ou du médecin de proximité). Dans chaque établissement de santé, la procédure de contrôle ultime prétransfusionnel doit préciser le dispositif de contrôle ultime de compatibilité ABO utilisé.

– Pose de la transfusion sous la responsabilité d'un médecin identifié comme médecin transfuseur de proximité, qui doit pouvoir se rendre immédiatement sur place (la circulaire du 15 décembre 2003 relative à la réalisation de l'acte transfusionnel précise que le médecin doit pouvoir intervenir à tout moment).

– Ouverture d'un dossier transfusionnel selon la procédure locale (le dossier transfusionnel est partie intégrante du dossier médical).
– S'assurer de la disponibilité des documents nécessaires à la traçabilité : prescription du PSL, fiche de délivrance, dossier transfusionnel, documents indispensables à la réalisation de l'acte transfusionnel (groupe, RAI), documents antérieurs éventuels.

Cas particuliers : urgences vitales

Le degré de l'urgence doit être mentionné sur l'ordonnance de prescription :
– urgence vitale immédiate : pas de groupe ni de RAI disponibles, délivrance sans délai de CGR, O non isogroupe Rh négatif (ou Rh positif), avant la connaissance des résultats des examens réglementaires ;
– urgence vitale : pas de RAI disponible, délivrance de CGR dans un délai inférieur à 30 minutes, avec si possible une détermination de groupe sanguin ABO RH-KEL1, avant la connaissance des résultats de la RAI ;
– urgence « relative » : nécessité de groupe sanguin ABO RH-KEL1 et RAI conformes, une épreuve de compatibilité si nécessaire, délivrance de CGR dans un délai de 2 à 3 heures.

ITEM 325 – Fiche 4

Connaître les aspects médico-légaux depuis le donneur jusqu'au receveur

Aspects médico-légaux concernant le donneur

– Principes éthiques du don de sang : anonymat, bénévolat, volontariat, non-profit.
– Exigences réglementaires relatives au don : âge, délais entre les dons, fréquence annuelle des dons, poids.
– Conditions de prélèvement.
– Hémovigilance des donneurs de sang : information post-don, effets indésirables donneurs, incidents de la chaîne transfusionnelle.

Respect des bonnes pratiques de préparation des PSL, qualification biologique des dons, distribution (décision du 6 novembre 2006 définissant les principes de bonnes pratiques)

– Respect de la conformité aux caractéristiques des produits sanguins labiles.
– Bonnes pratiques de prélèvement : anonymat, bénévolat, consentement éclairé signé par le donneur, critères de sélection des donneurs, conditions de prélèvement.
– Bonnes pratiques de préparation.
– Bonnes pratiques de qualification biologique du don : sont effectués systématiquement le groupage sanguin ABO RH1(D), la RAI (recherche d'anticorps antiérythrocytaire), le contrôle de l'hémoglobine ou de l'hématocrite, les marqueurs virologiques (antigène HBs, anti-VIH-1 et 2, anti-HBc, anti-VHC, anti-HTLV-I/II, dépistage de la syphilis et dépistage génomique viral du VIH-1, du VHC et du VHB).

– Recherche des anticorps antipaludéens et des anticorps anti-Chagas chez les sujets à risque (séjour en pays d'endémie, originaire d'un pays d'endémie).
– Bonnes pratiques de distribution délivrance : conditions de distribution délivrance et de traçabilité des PSL.

Aspects médico-légaux concernant le receveur (détails précisés dans la fiche 3)

– Information éclairée du patient sur les bénéfices et les risques de la transfusion.
– Réalisation d'examens prétransfusionnels obligatoires : groupage ABO-RH1 [ABO/D], phénotypage RH-KEL1, RAI et, si besoin, épreuve de compatibilité directe.
– Respect des indications et des contre-indications de la transfusion de PSL (recommandations de l'Afssaps 2002-2003 et de l'ANSM-HAS de 2012).
– Ouverture d'un dossier transfusionnel (et consultation des antécédents dans le dossier médical).
– Réalisation de l'acte transfusionnel (contrôles prétransfusionnels, surveillance, suivi clinique et biologique).
– Conservation avant élimination des unités transfusées avec le dispositif de perfusion clampé ainsi que le support de contrôle de compatibilité d'une durée minimale de 2 heures après transfusion.
– Hémovigilance des receveurs : traçabilité des produits sanguins, déclaration des effets indésirables et des incidents de la chaîne transfusionnelle par l'intermédiaire du correspondant d'hémovigilance, documentation d'information post-transfusionnelle et prescription médicale pour la réalisation du suivi post-transfusionnel (RAI dans un délai de 1 à 3 mois après la transfusion).

ITEM 325 – Fiche 5

Les analyses en immuno-hématologie érythrocytaire en vue d'une transfusion de produits sanguins labiles

Le caractère immunogène du polymorphisme érythrocytaire est un obstacle à la transfusion et nécessite le respect des compatibilités immunologiques. La prévention du risque immunologique repose sur :
– la connaissance des caractéristiques immunologiques des PSL et du statut immuno-hématologique du patient au moment de la transfusion ;
– l'adéquation des caractéristiques immunologiques du produit sanguin avec celles du receveur ;
– le maintien de cette adéquation à chaque étape du processus transfusionnel.

Comment définir le statut immuno-hématologique du patient ?

Par la prescription des analyses visant à déterminer le groupe sanguin ABO et le phénotype RH-KEL1, et à détecter les anticorps antiérythrocytaires présents chez le patient afin d'éviter le conflit immunologique :

– la détermination du groupe ABO repose sur deux épreuves complémentaires : une épreuve globulaire recherchant les antigènes A et B sur la membrane érythrocytaire ; une épreuve plasmatique recherchant les anticorps anti-A et anti-B correspondant aux antigènes globulaires absents. Cette analyse est indissociable de la détermination de l'antigène RH1. Deux déterminations sur deux prélèvements différents sont nécessaires pour la validité du groupage. La détermination du phénotype RH-KEL1 relatif aux antigènes RH2(C), RH3(E), RH4(c), RH5(e) et KEL1(K) est obligatoirement faite sur chaque prélèvement. La transmission électronique des résultats est la règle, en dehors des cas d'urgence ou d'impossibilité technique ;

– la recherche d'anticorps antiérythrocytaires irréguliers (RAI) : à l'aide de gammes d'hématies tests d'origine humaine, réglementairement définies, on dépiste puis identifie sur du sérum ou du plasma les anticorps dirigés contre les antigènes érythrocytaires autres que A et B. Cette recherche comporte deux étapes :

  – un dépistage au terme duquel le laboratoire pourra répondre « dépistage positif » ou « dépistage négatif » d'anticorps antiérythrocytaires ;

  – une identification, obligatoire en cas de dépistage positif, consistant à déterminer la spécificité du ou des anticorps présents ;

– l'épreuve directe de compatibilité au laboratoire dont l'indication est restreinte (en cas de RAI positive ou d'antécédent d'immunisation antiérythrocytaire et pour certains polytransfusés) est une analyse complémentaire de la RAI, consistant à tester l'échantillon du receveur vis-à-vis des hématies de la tubulure du produit à transfuser. En absence de réactivité, l'unité est déclarée compatible ;

– le phénotypage étendu consiste à rechercher un ou plusieurs antigènes érythrocytaires autres que ceux qui sont définis par le groupage ABO-RH1 et par le phénotypage RH-KEL1 : les principaux systèmes concernés sont les systèmes Duffy, Kidd, MNS.

Quand prescrire ces analyses ?

– Groupage ABO-RH-KEL1 : dès qu'une transfusion est prévisible, en l'absence d'un document déjà validé.

– RAI : dans les 72 heures qui précèdent une transfusion et en suivi post-transfusionnel, dans un délai de 1 à 3 mois après le dernier épisode transfusionnel.

– Épreuve directe de compatibilité : dès l'apparition d'un anticorps antiérythrocytaire.

– Phénotypage étendu : patients devant recevoir des transfusions itératives, patients en instance de greffe, patients présentant un anticorps irrégulier dans un des systèmes concernés.

Prescrire les analyses en vue de détecter une allo-immunisation post-transfusionnelle

Ce point repose sur la prescription d'une RAI recommandée dans un délai de 1 à 3 mois après le dernier épisode transfusionnel.

ITEM 325 – Fiche 6

Énoncer les gestes qui s'imposent devant une transfusion mal tolérée

Les signes possibles traduisant la mauvaise tolérance d'une transfusion sont extrêmement variés : hyperthermie avec ou sans frissons, agitation, sensation de chaleur, douleurs lombaires ou surtout thoraciques, hypotension voire collapsus, plus rarement hypertension, dyspnée, toux, expectoration, nausées ou vomissements, diarrhée, bouffées de chaleur, pâleur, sensation de prurit ou d'urticaire, saignements (en particulier aux points d'injection), tachycardie.
L'observation d'un ou plusieurs de ces signes impose :

– l'arrêt immédiat de la transfusion et le maintien d'une voie d'abord pour la perfusion d'un soluté ;

– l'appel du médecin de proximité informé de la transfusion et qui doit pouvoir intervenir à tout moment ;

– un examen clinique incluant la prise de la température et de la pression artérielle, la mesure de la fréquence cardiaque, l'auscultation, l'examen des urines ;

– la mise en place des mesures thérapeutiques immédiates (réanimation) ;

– l'envoi des poches (celle en cours de transfusion et celles déjà transfusées), des tubes de sang disponibles et des dispositifs de contrôle ultime effectués, selon la procédure locale, pour bilan d'effet indésirable ;

– la saisie de l'unité en cours de transfusion, des tubes de sang disponibles et des contrôles effectués ;

– la mise en place des mesures thérapeutiques immédiates (réanimation) ;

– la transmission des unités de sang au laboratoire de microbiologie de référence en cas de suspicion d'accident par contamination bactérienne, au laboratoire d'immuno-hématologie en cas de suspicion d'accident immunohémolytique (accompagnées de prélèvements du malade), en informant les correspondants d'hémovigilance de l'établissement de soins et de l'établissement de transfusion qui pourront coordonner ces actions et en diligenter d'autres, en fonction des observations cliniques.

L'ensemble des observations fera l'objet d'une déclaration dans les 48 heures au réseau d'hémovigilance (fiche d'effet indésirable receveur : FEIR ; fiche d'incident grave : FIG) saisie dans le logiciel national *e*-FIT.

Tout effet indésirable receveur ou incident grave de la chaîne transfusionnelle doit faire l'objet d'une analyse des causes.

ITEM 325 – Fiche 7

Énoncer les principaux accidents immunologiques de la transfusion

Conflits érythrocytaires : les réactions hémolytiques

Rares, bien que de fréquence sans doute sous-estimée (de l'ordre de 1 sur 30 000 unités de sang), mais pouvant être graves, elles sont presque exclusivement dues à un conflit immunologique entre les antigènes présents sur les

membranes des hématies transfusées et les anticorps présents dans le plasma du patient. Les anticorps concernés sont :

– les anticorps naturels du système ABO ;
– les anticorps immuns irréguliers des systèmes Rh, Kell, Duffy, Kidd, MNS ;
– les anticorps naturels ou immuns dirigés contre des antigènes fréquents.

Elles sont dues, le plus souvent, au non-respect, par les établissements de soins, des procédures transfusionnelles standardisées, notamment : erreur d'identification des prélèvements sanguins ; non-respect des examens biologiques prétransfusionnels ; erreur d'attribution des unités de sang et/ou absence de contrôle des concordances et/ou absence voire mauvaise réalisation du contrôle biologique ultime au lit du malade, qui est pourtant obligatoire pour la prévention d'une incompatibilité ABO.

Ainsi, ces accidents sont provoqués soit par un non-respect de la compatibilité dans le groupe ABO (toujours par erreur grossière de procédure), soit par la méconnaissance d'une allo-immunisation, mal ou non recherchée ou indétectable au moment de la recherche.

Le risque majeur est un choc avec collapsus, apparaissant dans les minutes ou les heures qui suivent la transfusion, souvent compliqué de CIVD, d'insuffisance rénale ou respiratoire aiguë. Un ictère hémolytique peut survenir de manière précoce (le lendemain), avec quelquefois retentissement rénal, ou retardé, au 5e ou au 6e jour, délai nécessaire à la réapparition d'un anticorps indétectable lors de la recherche prétransfusionnelle (ce qui signe dans ce cas la réactivation d'un anticorps). D'autres cas sont moins dramatiques : simple inefficacité de la transfusion, qui doit faire demander une enquête immunologique.

Œdèmes pulmonaires lésionnels post-transfusionnels

L'œdème pulmonaire lésionnel, appelé syndrome de détresse respiratoire aiguë post-transfusionnel ou TRALI (*Transfusion-Related Acute Lung Injury*), survient pendant la transfusion ou moins de 6 heures après. Il se manifeste principalement par une toux, une dyspnée, une hypoxie, une hypotension et une fièvre, des infiltrats diffus à la radiographie pulmonaire, sans signe de surcharge circulatoire. Il est souvent lié à la présence d'anti-HLA de classe I ou II et/ou d'anti-granulocytes dans le produit transfusé. Il peut mettre en jeu le pronostic vital. Il est à distinguer d'un œdème aigu du poumon (OAP) de surcharge circulatoire survenant immédiatement, au cours ou au décours de la transfusion, et dû à une transfusion trop rapide ou trop massive (surtout chez un receveur âgé insuffisant cardiaque). La surcharge volémique chez le receveur âgé reste une préoccupation constante et nécessite pédagogie et vigilance des acteurs médicaux et paramédicaux concernée par la prescription des PSL et la réalisation de l'acte transfusionnel et son suivi.

Allo-immunisation antileucoplaquettaire

Elle est devenue peu fréquente et moins grave (du fait de la déleucocytation systématique des PSL). Elle se manifeste par de violents frissons et une hyperthermie, et survient souvent dès le début de la transfusion, et surtout après transfusion de concentrés plaquettaires chez des sujets immunisés par des transfusions antérieures ou des grossesses.

Raction du greffon contre l'hôte post-transfusionnelle

Elle est devenue exceptionnelle, mais la forme aiguë est spontanément mortelle. Elle est due à la transfusion de cellules immunologiquement compétentes apportées par le sang du donneur à un receveur en immunodépression profonde.

Immunisation de l'hémophile A au facteur VIII

C'est un problème fréquent, qui complique le traitement des hémophiles A. Il justifie la recherche régulière des anticorps anti-VIII ou IX acquis. En cas d'immunisation faible, il est possible d'obtenir un niveau de facteur suffisant en augmentant notablement les doses de facteur VIII antihémophilique administrées.

Incompatibilité protéique

Rare, mais pouvant donner aussi un choc grave, de type anaphylactique, lié à des anticorps anti-IgA chez certains receveurs déficitaires congénitaux en IgA.

Réactions allergiques

En dehors des chocs anaphylactiques mentionnés, on peut observer des réactions allergiques bénignes (érythème, prurit, urticaire, frissons, hypothermie passagère), qui cèdent aux antihistaminiques ; quelquefois, ce sont des réactions plus inquiétantes, à type d'œdème de Quincke ou de crise d'asthme.

ITEM 325 – Fiche 8

Énoncer les principaux accidents non immunologiques de la transfusion

Accidents infectieux

– Infection bactérienne par contamination du produit transfusé : devenue aujourd'hui peu fréquente mais restant la principale contamination infectieuse transfusionnelle, elle peut entraîner un choc septique ou endotoxinique immédiat et grave, d'autant plus grave chez les sujets immunodéprimés, les patients sous chimiothérapie et les greffés de moelle.

– Infections virales :
  – virus connus dont les marqueurs sont systématiquement recherchés (virus des hépatites B et C, VIH, HTLV-I/II) : risque transfusionnel devenu infime en raison de la sélection rigoureuse des donneurs de sang, du dépistage spécifique (sérologie et dépistage génomique viral pour les trois virus majeurs), de la déleucocytation systématique des produits sanguins permettant d'éliminer les virus intraleucocytaires exclusifs (CMV, HTLV-I/II) ;
  – virus connus dont les marqueurs ne sont pas systématiquement recherchés (parvovirus B19, virus de l'hépatite A, CMV) : risque transfusionnel réduit en raison des caractéristiques de la virémie de courte durée pour certains virus (parvovirus B19, virus de l'hépatite A, virus de l'hépatite E), de l'immunisation acquise pour un nombre élevé de receveurs, de la déleucocytation systématique des produits sanguins permettant d'éliminer les virus intraleucocytaires exclusifs (CMV) ;
  – virus émergents.

– Agents transmissibles non conventionnels (prions).

– Infections parasitaires : il s'agit de parasites à circulation sanguine constante, intermittente ou occasionnelle, intracellulaires ou extracellulaires (paludisme, maladie de Chagas), rares en raison d'une prévention spécifique par une sérologie ciblée chez les donneurs à risque.

Accidents de surcharge des transfusions massives ou itératives

– Surcharge volémique : au cours ou au décours de la transfusion, surcharge circulatoire par transfusion trop rapide et massive (surtout chez un insuffisant cardiaque), avec œdème pulmonaire.

– Surcharge en citrate : complication des transfusions massives due aux solutions anticoagulantes contenues dans les produits sanguins, avec manifestations à type de paresthésies, de tremblements, de troubles du rythme cardiaque.

– Surcharge en fer : à moyen et long terme, hémochromatose post-transfusionnelle chez les malades polytransfusés chroniques en concentrés érythrocytaires (30 transfusions apportant environ 6 g de fer).

ITEM 325 – Fiche 9

Énoncer les principales infections transmissibles par la transfusion

Infections virales

Hépatites virales B et C et infection par le VIH : risque extrêmement réduit avec les PSL, en raison des moyens de prévention (sélection des donneurs de sang et dépistages biologiques spécifiques) ; risque théoriquement nul avec les médicaments dérivés du sang (MDS) en raison de la viro-atténuation par différentes méthodes.

	Risque résiduel	*Nombre estimé de dons infectés (sur 2,7 millions de dons par an)**
VIH	1 don sur 3 150 000	1 tous les 1 à 2 ans
VHB	1 don sur 4 000 000	1 tous les 1 à 2 ans
VHC	1 don sur 14 000 000	1 tous les 5 ans

* Données 2011-2013, source InVS.

– Risques émergents :
  – arboviroses (selon influence géographique) : *West Nile Virus*, virus de la dengue, virus chikungunya… ;
  – virus de l'hépatite E.

– Infection par le HTLV-I et par le cytomégalovirus : depuis la déleucocytation, le risque, pour les receveurs, est devenu « théoriquement nul » pour ces deux agents purement intraleucocytaires.

– Infection par le parvovirus B19 : risque faible avec les PSL et préoccupant uniquement chez certains receveurs (malades immunodéprimés, femmes enceintes, malades atteints d'hémolyse chronique).

Infections bactériennes

– Syphilis : risque quasi nul en raison d'une prévention spécifique obligatoire.

– Risque de choc endotoxinique et de septicémie en cas de contamination accidentelle de la poche de sang par une bactérie. Éviction temporaire du donneur en cas de syndrome frissons-fièvre récent.

Infections parasitaires

– Paludisme, Chagas : risque faible en raison d'une prévention spécifique ciblée chez les donneurs à risque.

– Toxoplasmose : risque exceptionnel, préoccupant uniquement chez les receveurs immunodéprimés.

– Risques beaucoup plus importants en pays d'endémie : leishmaniose, babésiose.

Risques émergents

– Le *West Nile Virus* (WNV) peut être transmis par transfusion.

– Autres agents infectieux (influence géographique) : virus de la dengue, virus du chikungunya, etc.

Agents non conventionnels

Les prions responsables de l'encéphalopathie spongiforme bovine (ESB) ou variant de la maladie de Creutzfeldt-Jakob (vMCJ) sont transmissibles par transfusion ; quatre cas ont été rapportés en Grande-Bretagne, aucun encore en France.

ITEM 325 – Fiche 10

Énoncer les conditions d'un don du sang standard et les causes d'exclusion

Le don de sang standard est autorisé dans le cadre d'un entretien avec un médecin de l'Établissement de transfusion ayant reçu une formation spécifique validée. Cet entretien a deux objectifs : s'assurer de la bonne tolérance, par le donneur, d'un prélèvement de 400 à 500 ml ; s'assurer auprès du donneur que le sang offert peut servir à la préparation de produits sanguins sans risque pour le donneur et pour le receveur. C'est au cours de l'entretien médical que le médecin qualifié assure la sélection des donneurs. Le donneur doit signer une fiche de consentement éclairé et certifier l'exactitude des renseignements fournis (en application du décret du 1er février 2006 transposé de la directive européenne CE/33/2004). Les conditions réglementaires suivantes doivent être remplies par le donneur :

– être âgé de 18 à 70 ans ;

– être en bonne santé ;

– peser au moins 50 kg ;

– ne pas avoir reçu l'un des traitements suivants : transfusion sanguine, greffe de tissu ou d'organe, hormone de croissance, intervention chirurgicale récente (le délai après une intervention chirurgicale, une anesthésie générale peut varier entre 1 et 6 mois en fonction de la nature de l'intervention) ;

– ne pas avoir dans sa famille une personne atteinte de la maladie de Creutzfeldt-Jakob ;
– ne pas avoir subi dans les six derniers mois un examen endoscopique (coloscopie, cœlioscopie, etc.) ;
– ne pas avoir séjourné, depuis moins de 4 mois, dans un pays où sévit le paludisme ou la maladie de Chagas ;
– ne pas avoir séjourné plus d'un an en Grande-Bretagne entre 1980 et 1996 (tous séjours cumulés) ;
– ne pas présenter de signe d'infection au moment du don ou dans les 6 jours qui le précèdent.

Les médicaments sont rarement une contre-indication au don : c'est le plus souvent la pathologie pour laquelle ils sont prescrits qui n'autorise pas le don.

De plus, certaines situations peuvent augmenter le risque d'exposition aux maladies virales : la notion de multipartenariat sexuel, les hommes ayant des rapports sexuels avec d'autres hommes (HSH), la consommation (même restée unique) de drogue, la notion d'activité sexuelle en zone d'endémie, la notion d'un partenaire concerné par une ou plusieurs des situations précédentes. Enfin, toute relation sexuelle avec un nouveau partenaire ou un partenaire occasionnel justifie un délai minimal de 4 mois avant de pouvoir donner du sang. Toute séropositivité (VIH, VHB, VHC) du donneur ou du partenaire sexuel est naturellement une cause d'exclusion du don de sang.

Toute anomalie biologique dépistée à l'occasion d'un don de sang fait l'objet d'une confirmation avec une information du donneur.

À noter que le décret n° 2014-1042 du 12 septembre 2014 relatif au sang humain prévoit la mise en place d'une expérimentation pour un entretien préalable réalisé par une infirmière. Un bilan à 18 mois sera rendu au ministère de la Santé pour évaluer l'opportunité d'une généralisation de cette mesure.

ITEM 325 – Fiche 11

Énoncer les gestes qui s'imposent après toute transfusion

– Sortie du malade :
  – information orale et écrite ;
  – document écrit spécifiant les produits sanguins reçus ;
  – prescription post-transfusionnelle : les textes imposent une RAI de contrôle entre 1 et 3 mois après la transfusion. À l'appréciation du médecin, un patient peut justifier d'un suivi sérologique. Dans tous les cas de positivité, le médecin ayant en charge le patient doit alerter sans délai le correspondant d'hémovigilance de l'établissement de soins, afin que soit établie une FEIR et mettre en route l'enquête transfusionnelle ;
  – en cas de transfusion en hôpital de jour, en centre de santé ou en hospitalisation à domicile, des consignes de surveillance et de conduite à tenir en cas d'EIR doivent être données au patient voire à la famille.
– Mise à jour des dossiers transfusionnels et d'hémovigilance en fonction des résultats biologiques pré- et post-transfusionnels (immuno-hématologiques, examens réalisés en cas d'effet indésirable receveur).

– Suivi post-transfusionnel :
  – faire un contrôle de la numération-formule sanguine après transfusion de CGR ou de plaquettes pour s'assurer de l'efficacité transfusionnelle ;
  – surveillance d'un accident différé (hémolytique ou infectieux) ;
  – recherche d'une allo-immunisation (RAI) ;
  – surveillance d'une iatrogénie à long terme : hémochromatose, maladie infectieuse transmissible.
– Pour chaque effet indésirable ou incident, signaler l'événement au correspondant d'hémovigilance de l'établissement de soins, qui remplira une FEIR, même si l'imputabilité est incertaine.

ITEM 325 – Fiche 12

Connaître les groupes sanguins érythrocytaires utiles en transfusion sanguine et responsables d'allo-immunisation fœtomaternelle

Les groupes sanguins jouent un rôle important en raison des anticorps dont ils peuvent induire la production et qui peuvent être à l'origine d'accidents transfusionnels ou d'accidents d'allo-immunisation fœtomaternelle.

Le système ABO

Les antigènes du système ABO sont les antigènes majeurs pour la compatibilité immunologique transfusionnelle car il existe de façon naturelle des anticorps dirigés contre les antigènes A ou B non exprimés sur les globules rouges : ce sont des anticorps naturels réguliers. Les gènes codant ABO, selon leur appariement génétique, conduisent à quatre phénotypes A, B, O, AB. Les génotypes sont les suivants :
– le phénotype A correspond au génotype AA ou AO ;
– le phénotype B correspond au génotype BB ou BO ;
– le phénotype O correspond au génotype OO ;
– le phénotype AB correspond au génotype AB.

La nature des anticorps naturels réguliers du sujet dépend de son phénotype. Ainsi :
– les sujets A sont porteurs d'anticorps anti-B ;
– les sujets B sont porteurs d'anticorps anti-A ;
– les sujets O sont porteurs d'anticorps anti-A et anti-B ;
– les sujets AB n'ont pas d'anticorps naturels réguliers.

La fréquence de ces phénotypes en Europe est la suivante : A = 45 %, O = 43 %, B = 9 %, AB = 3 %. Ces fréquences sont différentes dans les autres continents.

Le système Rh (RH)

Le système Rh est le plus important après ABO. De nombreux antigènes Rh sont en effet particulièrement immunogènes et les anticorps correspondants présentent un intérêt aussi bien transfusionnel qu'obstétrical. Le terme Rhésus ne doit plus être utilisé aujourd'hui. Les cinq antigènes classiques sont, dans

l'ordre d'immunogénicité : RH1(D), RH2(C), RH3(E), RH4(c), RH5(e). Ces antigènes dépendent de deux locus étroitement liés qui codent respectivement, l'un l'antigène RH1, l'autre les deux systèmes alléliques RH2, RH4 (Cc), RH3, RH5 (Ee).

Le groupe RH standard comporte deux phénotypes définis par la présence ou l'absence de RH1: la présence de RH1 correspond au phénotype Rh positif (RH:1), 85 % des individus ; son absence correspond au phénotype Rh négatif (RH:–1), 15 % des individus.

Les antigènes RH2, RH4 (Cc) d'une part et RH3, RH5 (Ee) d'autre part sont antithétiques — quand l'un est absent, l'autre est systématiquement présent.

Les gènes du système Rh sont en déséquilibre de liaison, les trois haplotypes les plus fréquents chez les Caucasiens étant DCe (41 %), dce (39 %), DcE (13 %).

Le phénotype Rh est indiqué de la façon suivante sur le compte rendu de laboratoire :

– groupe standard : Rh+ ou Rh– ;

– phénotype : RH:1 ou RH:–1 (D + /D–), RH:2 ou RH:–2 (C + /C–), RH:3 ou RH:–3 (E + /E–), RH:4 ou RH:–4 (c + /c–), RH:5 ou RH:–5 (e + /e–).

Ainsi, les phénotypes suivants peuvent s'interpréter de cette manière :

Phénotype	*Génotype le plus probable*	*Fréquence*
D– C– E– c+ e+ RH:–1,–2,–3,4,5	*dce/dce*	15 %
D+ C+ E– c+ e+ RH:1,2,–3,4,5	*DCe/dce*	34 %
D+ C+ E– c– e+ RH:1,2,–3,–4,5	*DCe/DCe*	20 %
D+ C+ E+ c+ e+ RH:1,2,3,4,5	*DCe/DcE*	13 %

Il n'existe pas de façon systématique des anticorps naturels : les anticorps anti-RH sont toujours des anticorps irréguliers. L'antigène RH1 est très immunogène et doit toujours être respecté lors d'une transfusion de CGR. Lorsqu'on transfuse du sang phénotypé compatible, on respecte l'ensemble des antigènes du système RH déterminés par le phénotype.

Le système Kell (KEL)

Il comporte deux antigènes majeurs : KEL1 (K), et KEL2 (k). Seul KEL1 est très immunogène (les anticorps anti-KEL1, sont immuns et irréguliers) ; 90 % des individus sont KEL:–1,2 (kk), 9,8 % sont KEL:1,2 (Kk). Le phénotype KEL:1,–2 (KK) est rare (prévalence de 2 pour 1 000). On évite l'immunisation anti-KEL1 en transfusant du sang phénotypé KEL:–1.

Le système Duffy (FY)

Il comporte deux antigènes majeurs : FY1 (Fy^a) et FY2 (Fy^b). Les phénotypes sont : FY:1,2 [Fy(a+b–)] (15 %), FY:–1,2 [Fy(a–b+)] (37 %), FY:1,2 [Fy(a+b+)]

(48 %). Le phénotype FY:–1,–2 [Fy(a–b–)] est tout à fait exceptionnel chez les sujets caucasiens. Les anticorps anti-FY sont des anticorps irréguliers qu'on doit dépister ou prévenir chez les polytransfusés ; 65 % des sujets d'origine afro-antillaise sont FY:–1,–2 [Fy(a–b–)], mais ils ne s'immunisent que très rarement dans le système FY.

Le système Kidd (JK)

Il comporte deux antigènes majeurs : JK1 (Jk^a) et JK2 (Jk^b). Les phénotypes sont : JK:1,–2 [Jk(a+b–)] (28 %), JK:–1,2 [Jk(a–b+)] (22 %), JK:1,2 [Jk(a+b+)] (50 %). Les anticorps anti-JK sont des anticorps irréguliers particulièrement dangereux qu'on doit dépister ou prévenir chez les polytransfusés.

Le système MNS (MNS)

Deux couples d'antigènes antithétiques : MNS1 (M), MNS2 (N) et MNS3 (S), MNS4 (s). Les haplotypes sont MS, Ms, NS, Ns.

Anticorps : rares anticorps irréguliers allo-immuns anti-MNS3 (S) (dangereux) ; rares anticorps naturels anti-MNS2 ou anti-MNS1 (peu dangereux).

Le système P et antigènes associés

Trois antigènes P, P_1, P^k définissent cinq phénotypes P_1, P_2, $P_1{}^k$, $P_2{}^k$ et p [Tj(a–)]. Les sujets P_2 ont souvent un anti-P_1 naturel et peu dangereux ; les exceptionnels sujets $P_1{}^k$, $P_2{}^k$ ou p peuvent avoir des anticorps naturels dangereux, anti-P pour les sujets $P_1{}^k$ et $P_2{}^k$, anti-Tj^a (anti-$PP1P^k$) chez les sujets p.

Le système Lewis (LE)

Système complexe : des anticorps anti-Le naturels irréguliers peuvent exister (anti-Le^a, anti-Le^b) ; ils sont le plus souvent sans danger.

Immunisation fœtomaternelle

L'immunisation d'une mère RH:–1 contre les hématies du fœtus RH:1 peut induire une maladie hémolytique du nouveau-né par passage des anticorps immuns chez le fœtus. Ceux-ci détruisent les hématies fœtales, entraînant une anémie et une souffrance fœtale. D'autres allo-immunisations maternofœtales peuvent être responsables de maladie hémolytique du nouveau-né, impliquant en particulier le système Kell et dans une moindre mesure les systèmes, Duffy, Kidd et MNS.

14 Esquisse des textes réglementaires en transfusion sanguine

En France, la transfusion sanguine relève du service public, de même que son organisation. En fait, trois grandes lois se sont échelonnées pour définir et organiser les activités transfusionnelles :

- la loi 52-854 du 21 juillet 1952 ;
- la loi 93-5 du 4 janvier 1993 ;
- la loi 98-535 du 1er juillet 1998.

Nous examinerons ces différentes lois[1] en analysant leur rapport avec les textes européens.

Loi 52-854 du 21 juillet 1952 sur l'utilisation thérapeutique du sang humain, de son plasma et de leurs dérivés

Cette loi a été le fondement de la transfusion française. Le législateur a voulu inscrire, au cœur du dispositif législatif, les principes éthiques suivants : volontariat, absence de profit et bénévolat. Les textes d'application indiquent en outre que l'exercice de l'activité des établissements de transfusion sanguine est soumis à une procédure d'agrément préfectoral et en précisent les modalités pratiques de fonctionnement.

Les principaux textes réglementaires publiés au cours des quatre décennies suivantes sont essentiellement orientés sur la prévention des accidents immunologiques et des maladies dont l'agent est transmissible par le sang. Le drame du sang contaminé et la mise en évidence de dysfonctionnements médico-techniques et administratifs survenus au cours des années 1980 ont conduit les pouvoirs publics et le législateur à établir une nouvelle organisation et de nouvelles structures.

En seulement deux pages du Journal officiel, cette loi définit précisément les grands axes de l'activité transfusionnelle.

Même si tous les aspects du don ne sont pas traités à égalité, on s'achemine vers un don de sang bénévole, anonyme et volontaire. Dans cette loi, le bénévolat n'est qu'insuffisamment mentionné.

1. Le détail des textes est à consulter sur le site de Légifrance, à l'adresse legifrance.gouv.fr.

© 2015 Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

Loi 93-5 du 4 janvier 1993 relative à la sécurité en matière de transfusion sanguine et de médicament

Cette loi comporte six thèmes fondamentaux, dont l'affirmation des principes éthiques du don du sang. Le don demeure anonyme, bénévole, gratuit et volontaire, et n'est effectué qu'après avoir obtenu le consentement du donneur. La loi du 4 janvier 1993 crée l'Agence française du sang (AFS), organisme de régulation et de coordination nationale, qui fait fonction, au titre du ministère de la Santé, de tutelle administrative, technique et financière, avec pouvoir de contrôle sur les établissements de transfusion sanguine (ETS). Le nombre d'établissements gestionnaires est réduit de 150 à 41, et leurs missions sont mieux définies.

L'élaboration de *bonnes pratiques transfusionnelles* et leur appropriation par les professionnels vont contribuer à améliorer la sécurité transfusionnelle sur l'ensemble de la chaîne transfusionnelle du prélèvement du donneur, de la qualification biologique du don, de la préparation, distribution-délivrance des produits sanguins labiles (PSL). Une harmonisation des pratiques se développe au sein des établissements de transfusion et une dynamique de management de la qualité se met en place progressivement.

Le dispositif réglementaire se décline principalement au travers des textes suivants :

- arrêté du 22 septembre 1993, relatif aux bonnes pratiques de prélèvement ;
- arrêté du 7 février 1994, relatif aux bonnes pratiques de préparation ;
- arrêté du 4 août 1994, relatif aux bonnes pratiques de distribution et délivrance ;
- arrêté du 4 janvier 1995, relatif aux bonnes pratiques de qualification biologique du don ;

Ce dispositif vient renforcer les textes émis dès 1992 :

- circulaire DGS/DH/3B n° 47 du 15 janvier 1992, relative au suivi de la sécurité transfusionnelle entre établissements de transfusion et établissements de santé ;
- circulaire DGS/AFS n° 54 du 23 septembre 1992, relative au plasma frais congelé ;
- directive technique n° 1 du 14 juin 1994, relative au contenu et aux modalités de transmission de la fiche d'incident transfusionnel ;
- circulaire DGS/DH/AFS n° 85 du 10 octobre 1995, relative à la conduite à tenir en cas d'incident bactérien lié à la transfusion sanguine ;
- circulaire DGS/DH n° 96-499 du 6 août 1996, relative à la conduite à tenir en cas de découverte d'une séroconversion ou d'une sérologie positive chez un receveur de PSL, et aux suites à donner aux demandes d'enquêtes des établissements de transfusion sanguine sur les receveurs de PSL présentant un risque viral ;
- la circulaire DGS/DH/AFS n° 97-662 du 30 septembre 1997, relative à l'information des médecins prescripteurs de PSL et des malades transfusés vis-à-vis de la mesure d'ajournement définitif du don de sang des receveurs de PSL.

La mise en œuvre d'un réseau national de surveillance de la collecte du sang et des effets indésirables pouvant être liés à l'utilisation de PSL est définie dans le décret n° 94-68 du 24 janvier 1994, relatif aux règles d'hémovigilance, pris pour application de l'article L. 666-12 du Code de la santé publique et ses textes d'application. Les missions des acteurs de l'hémovigilance sont précisées principalement dans la circulaire DGS/DH/AFS n° 24 du 16 mai 1995, relative aux missions des coordinateurs régionaux d'hémovigilance et aux orientations de leur action en 1995, et la circulaire DGS/DH/AFS n° 97-707 du 7 novembre 1997, relative à la fonction de correspondant d'hémovigilance de l'établissement de santé.

Des mesures pour renforcer la traçabilité des PSL sont prises à la suite du constat des difficultés rencontrées lors des enquêtes ascendantes et descendantes d'hémovigilance :

- directive technique n° 2 du 8 décembre 1994, relative à la traçabilité des PSL complétée par la circulaire DGS/DH n° 92 du 30 décembre 1994, relative à la traçabilité ;
- directive n° 2*bis* du 24 novembre 1997, relative à l'informatisation de la traçabilité des PSL, complétée par la circulaire DGS/DH/AFS n° 97-816 du 24 décembre 1997, relative à l'informatisation de la traçabilité ;

La surveillance biologique des patients transfusés est organisée ainsi que les modalités d'accès des patients aux informations :

- circulaire DGS/DH n° 96-609 du 1er octobre 1996, relative aux analyses et tests pratiqués sur les receveurs de PSL ;
- circulaire DGS/DH/AFS n° 97-149 du 26 février 1997, relative à l'accès des patients aux informations dans le domaine de la transfusion sanguine, notamment dans le cadre d'une action en responsabilité.

L'organisation territoriale de la transfusion sanguine est redéfinie dans le cadre de schémas autorisés par le ministre de la Santé. Les STOTS de première génération sont décrits dans l'arrêté du 25 juillet 1994, relatif aux schémas et aux commissions d'organisation territoriale de la transfusion.

Le maillage de la distribution-délivrance des PSL est mieux structuré, et les relations entre les établissements de transfusion sanguine et les établissements de santé autorisés à conserver des PSL sont fixées par mode conventionné :

- arrêté du 8 décembre 1994 fixant les clauses obligatoires de la convention entre un établissement de santé et un établissement de transfusion sanguine pour l'établissement d'un dépôt de sang, et modifiant le règlement relatif aux bonnes pratiques de distribution homologué par arrêté du 4 août 1994 ;
- circulaire DGS/DH n° 58 du 28 juin 1995, relative à la procédure d'autorisation des dépôts de sang dans les établissements de santé, complétée par la circulaire DGS/DH n° 96-23 du 17 janvier 1996.

La restructuration du fractionnement du plasma se traduit par la création du Laboratoire français du fractionnement et des biotechnologies (LFB). Les dérivés plasmatiques issus du don de sang sont intégrés dans le circuit de gestion et de distribution des médicaments. Les PSL restent du ressort du monopole des établissements de transfusion sanguine.

Cette loi est extrêmement détaillée, comportant un texte de loi analysant tous les aspects de la transfusion au travers de décrets, d'arrêtés et de circulaires sans compter les textes européens qui commencent à consolider l'ensemble du système transfusionnel.

Loi 98-535 du 1er juillet 1998

L'article 22 de la loi du 4 janvier 1993 prévoyait un bilan et une éventuelle révision du texte législatif 5 ans après sa mise en application. Les résultats de l'évaluation ont conduit à de nouveaux débats parlementaires et à la publication de la loi 98-535 du 1er juillet 1998, relative au renforcement de la veille sanitaire et du contrôle de la sécurité sanitaire des produits destinés à l'homme et à la création de l'Établissement français du sang (EFS). Elle confie à l'Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé (Afssaps) le contrôle de l'ensemble des produits touchant à la santé : le médicament (et la pharmacovigilance), les cosmétiques, les réactifs (et la « réactovigilance »), les produits du corps humain (et l'ensemble des vigilances correspondantes, dont l'hémovigilance). Cette loi conduit ainsi à la création d'un service public unifié de la transfusion sanguin confié à l'EFS, qui succède aux quarante et un établissements de transfusion. Le monopole des activités transfusionnelles est au profit de l'EFS, tandis que la sécurité sanitaire est confiée à l'Afssaps. La loi du 4 janvier 1993 avait permis une première restructuration des établissements de transfusion sanguine, en passant de 180 à 43 établissements, mais l'organisation restait hétérogène : statut des établissements de transfusion sanguine (associations, groupes d'intérêt public, budget annexe hospitalier), statut du personnel, volume et nature des activités. Au 1er janvier 2000 est créé l'EFS, opérateur unique civil de la transfusion sanguine au sens de la mise à disposition des PSL. L'opérateur militaire est le Centre de transfusion sanguine des armées (CTSA).

Placé sous la tutelle du ministre chargé de la Santé, l'EFS est un établissement public de l'État doté d'un conseil d'administration (dont la composition est fixée à l'article R. 1222-1 du Code de la santé publique et les compétences à l'article R. 1222-7) et d'un conseil scientifique (dont la composition est fixée à l'article R. 1222-10 du Code de la santé publique). Ce nouvel établissement, composé de services centraux et d'une organisation déconcentrée avec des établissements de transfusion sanguine régionaux, assure les activités de mise à disposition des PSL.

Missions de l'EFS (article L. 1222-1 du Code de la santé publique)

• Organiser, sur l'ensemble du territoire national, les activités de collecte de sang, de préparation et de qualification des PSL, ainsi que leur distribution et leur délivrance aux établissements de santé, dans le respect de l'arrêté du 10 septembre 2003 portant homologation du règlement de l'Afssaps définissant les principes de bonnes pratiques dont doivent se doter les établissements de transfusion sanguine.
• Promouvoir le don de sang, les conditions de sa bonne utilisation, et veiller au respect des principes éthiques (bénévolat : art. L. 1221-3 ; anonymat : art. L. 1221-7 ; absence de profit : art. L. 1221-1 ; consentement : art. L. 1221-3).
• Veiller à la satisfaction des besoins en matière de PSL et à l'adaptation de l'activité transfusionnelle aux évolutions médicales, scientifiques et technologiques dans le respect des principes éthiques.
• Favoriser l'activité de recherche et promouvoir la diffusion des connaissances scientifiques et techniques en transfusion sanguine.
• Tenir un fichier de donneurs et receveurs de groupes sanguins rares, et coordonner l'activité des laboratoires de référence.
• Prendre part à l'organisation et l'acheminement des secours en cas de catastrophe.
• Participer à la coopération scientifique et technique européenne et internationale.
• Assurer, dans le cadre du réseau d'hémovigilance, la transmission des données de sécurité sanitaire à l'Afssaps, des données épidémiologiques à l'Institut de veille sanitaire (InVS).

Gestion des niveaux de compétences

Cette gestion est régie par :
• le décret n° 97-1104 du 26 novembre 1997, relatif aux qualifications de certains personnels des établissements de transfusion, pris en application de l'article L. 668-9 du Code de la santé publique et modifiant ce Code ;
• la circulaire DGS/DH/AFS n° 98-150 du 27 août 1998, relative à la mise en œuvre des dispositions du décret n° 97-1104 du 26 novembre 1997, relatif aux qualifications de certains personnels des établissements de transfusion ;
• l'arrêté du 12 mai 2000 fixant les modalités et conditions d'application des dispositions prévues aux articles R. 668-7, R. 668-12, R. 668-16 et aux articles 4 à 7, 9 et 10 du décret n° 97-1104 du 26 novembre 1997, relatif aux qualifications de certains personnels des établissements de transfusion, pris en application de l'article L. 1222-8 du Code de la santé publique.

Mesures prises pour renforcer la qualité des produits et la sécurité des patients

Plusieurs mesures sont possibles grâce au développement de l'automatisation, notamment dans le secteur de la préparation et des nouvelles technologies de qualification biologique du don.

La filtration systématique des PSL en février 1998 et le dépistage des génomes du VIH-1 et du VHC introduit en France dès le 1er juillet 2001 sont deux exemples phares :

- circulaire DGS/DH/AFS n° 98-118 du 20 février 1998, relative à la mise en place de la déleucocytation systématique des PSL (concentrés de globules rouges et concentrés de plaquettes) et aux mesures nécessaires à la montée en charge de ce dispositif ;
- décret n° 2002-723 du 3 mai 2002 relatif aux analyses biologiques et tests de dépistage des maladies transmissibles effectués sur les prélèvements de sang et de ses composants.

La liste et les caractéristiques des PSL sont complétées progressivement : la décision du 20 octobre 2010 fixe la liste et les caractéristiques des PSL, modifiant la décision du 28 mars 2007, modifiant elle-même l'arrêté du 19 juillet 2005 et l'arrêté du 29 avril 2003 fixant la liste et les caractéristiques des PSL.

Des référentiels réglementaires deviennent opposables à tous les professionnels de la chaîne transfusionnelle : arrêté du 24 avril 2002 portant homologation du règlement relatif aux bonnes pratiques de transport des prélèvements, produits et échantillons issus du sang humain ; arrêté du 26 avril 2002 modifiant l'arrêté du 26 novembre 1999, relatif à la bonne exécution des analyses de biologie médicale.

L'informatisation de la traçabilité est renforcée par :

- la décision du 28 mars 2001 du directeur général de l'Afssaps, portant modification de certaines annexes de la directive technique n° 2*bis* de l'AFS du 24 novembre 1997, relative à l'informatisation de la traçabilité des PSL ;
- la décision du 6 janvier 2004 du directeur général de l'Afssaps portant modification de la directive technique n° 2*bis* de l'AFS du 24 novembre 1997, relative aux conditions de mise en place de l'informatisation de la traçabilité des PSL, prise en application de l'article R. 666-12-11 du Code de la santé publique et de certaines de certaines annexes ;
- la décision du directeur général de l'Afssaps n° 2007-98 du 22 mars 2007, portant modification de la directive technique n° 2*bis* de l'AFS du 24 novembre 1997 relative aux conditions de mise en place de l'informatisation de la traçabilité des PSL, prise en application de l'article R. 666-12-11 du Code de la santé publique ;

• la décision du directeur général de l'Afssaps n° 2008-52 du 3 mars 2008 portant modification de la directive technique n° 2*bis* de l'AFS du 24 novembre 1997 relative aux conditions de mise en place de l'informatisation de la traçabilité des PSL, prise en application de l'article R. 666-12-11 du Code de la santé publique.

Le dispositif de gestion et d'autorisation des dépôts de sang en établissements de santé par le préfet de département est sécurisé par la circulaire DGS/DH n° 2000-246 du 4 mai 2000, relative à la procédure d'autorisation des dépôts de PSL dans les établissements de santé.

Schéma d'organisation de la transfusion sanguine (SOTS)

Le schéma d'organisation de la transfusion sanguine (SOTS) aux termes de l'article L. 1224-1 du Code de la santé publique, détermine :

• la zone de collecte de l'établissement de transfusion ;

• les installations et équipements nécessaires pour les besoins en matière de transfusion ;

• les modalités de coopération entre les établissements de transfusion ainsi que, le cas échéant, celles relatives à la coopération entre établissements de santé et établissements de transfusion.

Les schémas de 1995-2000 se sont traduits par une réduction du nombre de structures administratives avec maintien de statuts hétérogènes. Ceux de 2000-2005, en référence à la note DGS/DHOS du 14 octobre 2005 relative à l'articulation entre les schémas d'organisation sanitaire et les schémas d'organisation de la transfusion pour l'implantation des dépôts de sang dans les établissements de santé, ont intégré l'EFS et ses activités dans l'architecture régionale du système de santé.

Les critères principaux de mise en place sont l'harmonisation par rapport aux régions administratives, la prise en compte des regroupements d'établissements de transfusion sanguine, la cohérence avec les réseaux de communication et la nécessité d'atteindre une taille critique de 120 000 prélèvements (métropole).

Dispositif d'hémovigilance

Le dispositif d'hémovigilance est étendu aux incidents et aux effets indésirables graves survenus chez les donneurs et au suivi épidémiologique des donneurs :

• circulaire DGS/DH/AFS n° 98-231 du 9 avril 1998, relative à l'information des malades en matière de risques liés aux PSL et aux médicaments dérivés du sang, et sur les différentes mesures de rappel effectuées sur ces produits ;

- circulaire DGS n° 98-470 du 23 juillet 1998, relative à l'information des patients présentant une demande d'indemnisation suite à une contamination transfusionnelle par le virus de l'hépatite C ;
- circulaire DGS/SQ4/DH n° 99-424 du 19 juillet 1999, relative aux modifications engendrées par le transfert de l'hémovigilance à l'Afssaps ;
- note du 21 octobre 2002 du directeur général de l'Afssaps à l'attention des coordonnateurs régionaux d'hémovigilance, des correspondants d'hémovigilance des établissements de santé et des établissements de transfusion sanguine relative à la déclaration des incidents transfusionnels de gravité ;
- circulaire DGS/DHOS/Afssaps n° 581 du 15 décembre 2003, relative aux recommandations concernant la conduite à tenir en cas de suspicion d'incident transfusionnel par contamination bactérienne ;
- circulaire DGS/SD5B/DGAl/DNP n° 2004-341 du 15 juillet 2004, relative aux mesures visant à limiter la circulation du *West Nile Virus* en France métropolitaine ;
- circulaire DGS/SD5C/DHOS/2005/435 du 23 septembre 2005, relative aux recommandations pour le traitement des dispositifs médicaux utilisés chez les sujets ayant reçu des PSL provenant de donneurs rétrospectivement atteints de variant de la maladie de Creutzfeldt-Jakob (vMCJ).

Activités liées et accessoires

Les activités liées et accessoires sont précisées dans l'article L. 1223-1 du Code de la santé publique : « Les établissements de transfusion sanguine ont vocation à développer toute activité liée à la transfusion sanguine, au conseil et au suivi des actes transfusionnels. Ils peuvent notamment être autorisés à distribuer, en gros, des médicaments dérivés du sang, sous réserve de se doter d'un pharmacien responsable et à les dispenser aux malades qu'ils traitent. »

Article R. 1223-14 du Code de la santé publique

L'article R. 1223-14 indique les possibilités d'activité suivantes : production de composants du sang et de produits sanguins ; fabrication et distribution de réactifs de laboratoires ; préparation, conservation, distribution et cession de tissus humains et de cellules autres que celles du sang, ainsi que des produits de thérapie cellulaire et génique ; analyses de biologie médicale, autres que celles qui sont directement liées à l'objet spécifique de la transfusion sanguine ; dispensation de soins ; lactarium.

Ce texte continue, en 2015, de régir les grands principes de l'activité transfusionnelle.

Directives européennes

En parallèle au développement de l'EFS, la transfusion française doit intégrer la transposition, en droit français, des exigences fixées par la Communauté européenne :

- la directive-mère du Parlement européen et du Conseil établit des normes de sécurité. La directive-fille précise certaines exigences techniques. La dualité entre directive-mère et directive-fille est que l'une établit le principe et l'aspect normatif et que l'autre se cantonne aux données techniques d'application ;
- la directive-fille 2005/61/CE précise les exigences en matière de traçabilité et la notification des réactions et effets indésirables : définitions, traçabilité, procédure de vérification de la délivrance des PSL, enregistrement des données concernant la traçabilité, notification des réactions indésirables graves, notification des incidents indésirables graves, exigences concernant les PSL importés, rapports annuels ;
- la directive-fille 2005/62/CE précise les normes et spécifications relatives à un système de qualité dans les établissements de transfusion sanguine : définitions, normes et spécifications applicables.

Textes de transposition des directives européennes en droit français

Les textes de transposition des directives européennes en droit français voient une modification des dispositifs réglementaires existants comme différentes ordonnances ou certains décrets. Ces dispositions sont obligatoires dans un délai prémentionné dans les textes européens.

La distribution et la délivrance sont redéfinies

La *distribution* correspond à la fourniture de PSL par un établissement de transfusion à d'autres établissements de transfusion, aux établissements de soins gérant des dépôts de sang et aux fabricants de produits de santé.

La *délivrance* est la mise à disposition de PSL sur prescription médicale en vue de leur administration à un patient déterminé. Elle est effectuée en veillant à la compatibilité immunologique, dans le respect de la prescription médicale.

La différenciation entre distribution et délivrance est importante car elle conditionne, dans certains pays, l'ensemble du mode de fonctionnement de la transfusion sanguine.

Définition du dépôt de sang d'après la directive européenne

Dans la directive européenne, le dépôt de sang est défini comme une unité gérée par un établissement de santé et étant autorisé à :

- conserver des PSL afin de les délivrer à un patient hospitalisé dans les services de l'établissement de soins (dépôt de délivrance, voire dépôt d'urgence) ;
- conserver des PSL délivrés par son établissement de transfusion référent en vue de les transfuser à des patients de l'établissement de soins (dépôt relais).

Un dépôt de sang ne peut pas délivrer de PSL pour un patient hospitalisé dans un autre établissement de santé, en dehors de l'urgence vitale.

Les exigences réglementaires de dépôts de sang sont renforcées par :
- le décret du 7 septembre 2007 relatif aux dépôts de sang ;
- l'arrêté du 30 octobre 2007 relatif aux conditions d'autorisations des dépôts de sang pris en application des articles R. 1221-20-1 et R. 1221-20-3 ;
- l'arrêté du 30 octobre 2007 fixant la liste des matériels des dépôts de sang prévus à l'article R. 1221-20-4 ;
- l'arrêté du 30 octobre 2007 fixant le modèle type de convention entre un établissement de santé et l'établissement de transfusion référent pour l'établissement d'un dépôt de sang ;
- l'arrêté du 3 décembre 2007 relatif aux qualifications de certains personnels des dépôts de sang ;
- l'arrêté du 16 décembre 2008 portant homologation du cahier des charges de la formation des personnels des dépôts de sang.

Au niveau hospitalier, des mesures prises pour renforcer la sécurité transfusionnelle s'inscrivent progressivement dans le cadre des démarches d'amélioration de la qualité développées notamment en regard de la procédure de certification HAS (Haute Autorité de santé) :
- loi 2002-303 du 4 mars 2002 relative aux droits des malades et à la qualité du système de santé ;
- circulaire DGS/DHOS/Afssaps n° 582 du 15 décembre 2003, relative à la réalisation de l'acte transfusionnel ;
- recommandations Afssaps d'août 2002 et de juin 2003 pour les transfusions de globules rouges, de plasma frais congelé, de plaquettes ;
- circulaire DHOS/E2/E4/2004/176 du 29 mars 2004, relative aux recommandations pour la mise en place d'un programme de gestion des risques dans les établissements de santé ;
- circulaire DGS/DHOS n° 2006-11 du 11 janvier 2006, abrogeant la circulaire DGS/DH n° 609 du 1er octobre 1996 relative aux analyses et tests pratiqués sur des receveurs de PSL ;
- lettre circulaire DGS/DUS/2007/354 du 21 septembre 2007, relative au dispositif centralisé de réception et de gestion des alertes CORRUSS ;
- circulaire DGS/DUS/2009/101 du 14 avril 2009, relative au dispositif centralisé de réception et de gestion des alertes ;
- décision n° 2007.10.035/EPP du 7 novembre 2007 de la HAS, relative aux modalités de mise en œuvre de l'évaluation des pratiques professionnelles ;
- référentiels de certification des établissements de santé HAS (dernière version : juin 2009).

La majorité des textes peut paraître déjà ancienne, mais il y a eu très peu de textes réglementaires depuis 2009 afin de permettre de valider et d'évaluer le système mis en place par l'application de la directive européenne correspondante.

Les agences régionales de santé

La loi 2009-879 du 21 juillet 2009 portant réforme de l'hôpital et relative aux patients, à la santé et aux territoires (HPST) crée les agences régionales de santé (ARS) qui vont avoir à gérer, entre autres, les recombinaisons hospitalières et les regroupements de plateaux techniques en référence à l'ordonnance n° 2010-49 du 13 janvier 2010 relative à la biologie médicale. À 5 ans, le système de santé doit se réorganiser en profondeur avec pour objectif l'efficience.

En parallèle, l'Établissement du sang doit poursuivre sa démarche d'optimisation. Dans ce contexte global, les ARS devront veiller à la cohérence des organisations de l'offre de soins et du réseau transfusionnel permettant de garantir la qualité du service rendu et le respect des exigences de sécurité pour les patients.

Annexes

Dons et donneurs de sang en France : quelques chiffres

La transfusion sanguine est une thérapeutique substitutive. Il n'existe pas de produit capable de se substituer complètement au sang humain. Le recours au don du sang et de ses composants reste donc la seule source de produits sanguins labiles pour plus de 500 000 malades chaque année. Malgré l'apparition des protéines recombinantes, les dons de sang total ne suffisent pas non plus à garantir le besoin croissant en médicaments dérivés du sang, notamment en immunoglobulines polyvalentes : en France, 500 000 autres patients sont traités annuellement par ces protéines issues du fractionnement plasmatique. Les dons de plasma ont triplé en France depuis 2002 afin de répondre à cette demande. Ainsi, chaque année, il est nécessaire de faire appel à la générosité d'environ 1 700 000 donneurs de sang.

Don de sang

En 2009, 3 053 010 dons de sang total ou de ses composants ont été effectués par 1 689 495 donneurs. Il est à noter que 25 % de ces donneurs, soit 423 570 donneurs, réalisaient leur premier don (source EFS). Entre 2002 et 2009, les dons de sang et de ses composants ont progressé de 23 % en France, pour répondre à une croissance de la consommation en produits sanguins de 20 % sur la même période.

Donneurs de sang

Selon les études objectives réalisées à partir des données de l'EFS et du CTSA, 4,3 % de la population en âge de donner a participé au don du sang en 2009 (sources : InVS, EFS, CTSA, INTS). Cependant, 52 % des Français interrogés en 2007 prétendaient avoir donné au moins une fois leur sang au cours de leur vie (étude CREDOC/EFS). Plus étonnant encore, 10 % d'entre eux prétendaient l'avoir fait au cours des douze derniers mois, chiffre contredisant les données officielles. On peut attribuer cette différence soit à l'approximation de la mémoire récente, soit à une certaine confusion entre l'intention et le passage à l'acte effectif.

Cependant, le nombre total annuel des donneurs de sang a effectivement augmenté de 10 % entre 2002 et 2009.

Depuis quelques années, on constate une évolution de la répartition des donneurs selon l'âge et le sexe (tableau I).

© 2015 Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

Tableau I. Répartition des donneurs de sang selon l'âge et le sexe.

	2002	2009
Hommes	51,5 %	48,8 %
Femmes	48,5 %	51,2 %
18-29 ans	30,3 %	34 %
30-49 ans	45,1 %	41 %
50-65 ans	24,6 %	25 %

Traditionnellement, au sein de la population des donneurs de sang, les hommes étaient plus nombreux que les femmes ; jusqu'en 1998, ils représentaient 54 % des donneurs. Depuis 2001, le don du sang se féminise. En 2009, le sex-ratio hommes/femmes était de 0,96. Cette tendance à la féminisation du don se confirme au fil du temps. Entre 1998 et 2009, le sex-ratio est passé de 1 à 0,87 chez les nouveaux donneurs.

Féminisation du don du sang

Cette féminisation du don est consécutive à une double évolution : une baisse de la participation des hommes et une augmentation de celle des femmes (tableau II). Cette évolution sociologique semble s'expliquer par la disparition du service national, qui correspondait souvent au premier don de sang, par une appréhension plus forte chez les hommes jeunes, par ailleurs moins sensibles aux problématiques de santé que les femmes, enfin par la difficulté logistique des collectes en entreprise.

Âge des donneurs

Un rajeunissement général de la population des donneurs est perceptible. La tranche d'âge 30-49 ans tend à se réduire au bénéfice de celle des 18-29 ans.

Tableau II. Répartition des donneurs par sexe en fonction de l'âge (année 2009, source InVS, EFS, CTSA, INTS).

Hommes	18-29 ans	15,8 %
	30-49 ans	20,9 %
	50-69 ans	14,8 %
	Total	**49 %**
Femmes	18-29 ans	18,6 %
	30-49 ans	19,6 %
	50-69 ans	10,8 %
	Total	**51 %**
Total		100 %

La contraction de la tranche 30-49 ans s'explique par les contraintes croissantes de la vie professionnelle et familiale. Il s'agit là d'une forte tendance, puisque ce groupe, qui était constitué de 48 % des donneurs en 1998, n'en représentait plus que 43 % en 2004. Cette évolution, qui se confirme en 2009, s'explique aussi par la forte croissance du groupe 18-29 ans. Contrairement aux idées reçues, les sujets âgés de moins de 30 ans représentaient 34 % des donneurs en 2009, alors qu'ils n'étaient que 25 % de la population générale en âge de donner. Cette proportion est encore plus marquée pour les femmes qui donnent leur sang, 38 % d'entre elles ayant moins de 30 ans.

Par ailleurs, 10 % des sujets de moins de 20 ans participent au don du sang, mais cet engagement semble s'essouffler assez rapidement, puisque seuls 5 % des sujets de 20-25 ans poursuivent leur démarche. Plusieurs raisons expliquent ceci. Il semble que l'acte du don représente, aux yeux de certains, un acte initiatique marquant le passage à l'âge adulte. En outre, la période de la vie comprise entre 20 et 30 ans est marquée par des déménagements fréquents, qui ne favorisent pas la fidélisation. Enfin, la construction de la vie familiale et professionnelle, dans un environnement le plus souvent très urbanisé, explique que la principale raison citée pour expliquer la non-participation au don du sang soit le manque de temps, ou le fait de ne pas y penser.

Nombre moyen de dons de sang par donneur et par an

Le nombre moyen de dons de sang par donneur et par an reste relativement stable. Ce nombre moyen de dons est de l'ordre de 1,8 (il est de 1,9 pour les donneurs connus). Avec le recrutement de nouveaux donneurs garantissant le renouvellement du fichier des donneurs, la fidélisation au don constitue le deuxième axe pour garantir l'approvisionnement en produits sanguins. Il faut en effet aujourd'hui 9 500 dons par jour pour répondre aux besoins nationaux.

Ce facteur est influencé par certains paramètres sociétaux déjà envisagés, tels que les rythmes de la vie moderne, en particulier en milieu urbain, avec des déplacements de plus en plus difficiles, mais aussi par l'évolution du profil des donneurs. Ces contraintes sociales pèsent encore plus lourdement chez les femmes, surtout dans la tranche d'âge comprise entre 25 et 40 ans. C'est ce qui explique que leur forte adhésion entre 18 et 25 ans ne se confirme pas au-delà. Il existe aussi une différence entre les hommes et les femmes pour des raisons physiologiques, réduisant le nombre annuel de dons chez la femme. Ce frein physiologique se traduit par un taux de refus plus élevé chez les femmes que chez les hommes, pour des motifs correspondant à un poids corporel inférieur à 50 kilogrammes, ou à un taux d'hémoglobine inférieur à 12 g/dl. La présence d'anticorps anti-HLA

dans le sérum de femmes ayant eu un ou plusieurs enfants contre-indique également leur participation au don de plaquettes d'aphérèse, ou à la préparation de PFC à partir d'un don de plasma.

L'évolution de ce facteur est à prendre en compte pour maintenir l'objectif d'autosuffisance à moyen terme, et donc être capable de répondre aux besoins des malades. Dans ce contexte, le recrutement et la fidélisation de donneurs masculins devient une priorité stratégique.

Coordonnées des établissements de transfusion en France

Alsace
10 rue Spielmann
BP 36
67065 Strasbourg CEDEX
Tel. 03 88 21 25 25
Fax. 03 88 21 25 21

Alpes-Méditerranée
149 boulevard Baille
13005 Marseille
Tel. 04 91 18 95 00
Fax. 04 91 18 95 98

Aquitaine-Limousin
Hôpital Pellegrin
Place Amélie-Raba Léon-BP 24
33035 Bordeaux
Tel. 05 56 90 83 83
Fax. 05 56 90 83 84

Auvergne-Loire
25 boulevard Pasteur
42023 Saint-Etienne
CEDEX 2
Tel. 04 77 81 42 42
Fax. 04 77 80 82 94

Bourgogne-Franche-Comté
1 boulevard A. Fleming
25020 Besançon
Tel. 03 81 61 56 15
Fax. 03 81 61 56 17

Bretagne
Rue Pierre-Jean Gineste-BP 91614
35016 Rennes CEDEX
Tel. 02 99 54 42 22
Fax. 02 99 54 83 20

Centre-Atlantique
50, Avenue Marcel Dassault
BP 40661
37206 Tours CEDEX 3
Tél. 0247362100
Fax. 0247362176

Ile-de-France
122-130, rue Marcel-Hartmann
Lea-Park, Bâtiment B
94200 Ivry-sur-Seine
Tel. 01 43 90 50 05
Fax. 01 43 90 50 50

Lorraine-Champagne
Avenue de Bourgogne
54511 Vandœuvre-les-Nancy CEDEX
Tel. 03 83 44 62 62
Fax. 03 83 44 60 46

Nord-de-France
96 rue de Jemmapes
B.P. 2018
59012 Lille CEDEX
Tél. 0 820 80 22 22
joelle.bourey@efs.sante.fr

Normandie
609 chemin de la Bretèque
76230 Bois-Guillaume
Tel. 02 35 60 50 50
Fax. 02 35 60 07 90

Pays-de-la-Loire
34 boulevard Jean-Monnet
44011 Nantes
Tel. 02 40 12 33 00
Fax. 02 40 12 33 33

Pyrénées-Méditerranée
Avenue de Grande-Bretagne
BP 3 210
31027 Toulouse CEDEX
Tel. 05 61 31 20 20
Fax. 05 61 31 20 25

Rhône-Alpes
1390 rue centrale Beynost
01708 Miribel
Tel. 04 72 71 17 00
Fax. 04 72 72 93 48

Guadeloupe-Guyane
CHU Hôpital Ricou
BP 686
97171 Pointe-à-Pitre CEDEX
Tel. 05 90 89 15 55
Fax. 05 90 89 15 65

Martinique
Hôpital Pierre-Zobda Quitman
La Meynard BP 666
97264 Fort-de-France Cedex
Tel. 05 96 75 79 00
Fax. 05 96 75 29 14

La Réunion
CHD de Bellepierre
97400 Saint-Denis
Tel. 02 62 90 53 80
Fax. 02 62 90 50 55

Centre de transfusion sanguine des armées
1 rue du Lieutenant Raoul-Batany
BP 410
92141 Clamart CEDEX
Tél. 01 41 46 72 00
Fax. 01 46 38 82 87

Centre de transfusion sanguine des armées, site de Toulon
HIA Sainte-Anne
Bd Sainte-Anne
BP 600
83800 Toulon Naval
Tél. 04 94 09 98 94
Fax. 04 94 09 92 17

Références bibliographiques

AABB: *Technical Manual*, 16th ed, Bethesda, 2008, AABB Press.

Barbara JAJ, Regan FAM, Contreras MC: *Transfusion microbiology*, Cambridge University Press, 2008.

Contreras M: *ABC of Transfusion*, 4th ed, MJ Books, 2009, Wiley-Blackwell.

Courbil R, Quaranta J-F: *Connaître et gérer le risque transfusionnel*, Weka, 2007.

Danic B, Lefrère J-J: *De vous à moi donnez votre sang. Le don du sang, le sang du don*, Médi-Texte, 2008.

Guide pour la préparation, l'utilisation et l'assurance de qualité des composants sanguins, 15e éd, Strasbourg : Éditions du Conseil de l'Europe, 2010.

Hillyer CD, Silberstein LE, Ness PM, Anderson KC, Robakc JD: Blood banking and transfusion medicine, 2nd ed, Basic principles and practice. Churchill, 2007, Livingstone Elsevier.

Klein HG, Anstee DJ: *Mollison's blood transfusion in clinical medicine*, 11th ed, Blackwell Publishing, 2005.

Lefrère J-J, Rouger P: Transfusion sanguine, Une approche sécuritaire. Paris, 2000, John Libbey.

Lefrère J-J, Schved J-F: *Transfusion en hématologie*, Paris, 2010, John Libbey.

Mintz PD: Transfusion therapy, 3rd ed, Clinical principes and practice. AABB Press, 2010.

Murphy MF, Pamphilon DH: *Practical transfusion medicine*, 2nd ed, Blackwell Publishing, 2005.

Overfield J, Dawson M, Hamer D: *Transfusion science*, 2nd ed, Scion Publishing Ltd, 2008.

Ried ME, Lomas-Francis C: Blood group antigens and antibodies, A guide to clinical relevance and technical tips. New York, 2007, SBB Books.

Rouger P: La transfusion sanguine, 2e éd, Coll. Que Sais-Je ? Paris, 2001, PUF.

Rouger P, Hossenlopp Cl: Blood transfusion in Europe, The White Book 2005. Paris, 2005, Elsevier.

Simon TL, Snyder EL, Solheim BG, Petrides M: *Rossi's principles of transfusion medicine*, 4th ed, Wiley-Blackwell, AABB Press, 2009.

La revue *Transfusion clinique et biologique* (Elsevier) est accessible en ligne (http ://ees.elsevier.com/tracli).

Pour toute autre référence, consulter les auteurs du présent ouvrage sur le site de l'INTS (http ://www. ints.fr).

© 2015 Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

Index

A

ABO, système, 77, 87, 88, 108, 396
– compatibilité, 99, 254
– groupage, 117
Accidents de la transfusion, 167, 390
– allergiques, 173
– bactériens, 169, 394
– d'allo-immunisation, 172
– de surcharge, 173, 393
– immuno-hémolytiques, 171
– infectieux, 392
– liés au système érythrocytaire, 171
– liés au système leuco-plaquettaire, 171
– liés aux agents transmissibles non conventionnels, 170
– liés aux cellules immunocompétentes, 172
– parasitaires, 170, 394
– viraux, 169, 393
Acte transfusionnel, 244, 251
– sécurité, 356
– traçabilité, 257
ADAMTS13, 241
Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé (ANSM), 2, 177, 179, 180, 264
Agence régionale de santé (ARS), 180, 409
Agents infectieux transmissibles par voie sanguine, 151
Agents transmissibles non conventionnels (ATNC), 164, 394
AHAI. *Voir* Anémies hémolytiques auto-immunes
Albumine, 294, 383
Allergie, 173, 231, 392
Alloanticorps, 109, 116, 204
Allo-immunisation, 110, 168, 172, 214, 221, 243, 258, 364, 389
– antiérythrocytaire, 101, 107, 119
– anti-HLA, 27, 97, 223
– anti-HPA, 171, 225
– anti-IgA, 100, 392
– anti-IgG, 99
– érythrocytaire, 95
– et génotype HLA, 114
– fœtomaternelle, 127, 205, 396
– prévention, 115, 119
Alphathalassémies, 130
Amotosalen, 30, 32, 38, 40, 41, 209, 236
Anasarque, 127, 133
Anémie(s), 102, 103, 105, 126, 145, 203, 204
– aiguë, 200
– chronique, 201
– hémolytiques
– – acquises, 203
– – auto-immunes, 102, 103, 105
– – immuno-allergiques médicamenteuses, 204
– – néonatales, 126, 145
Anonymat, 351
Anticoagulants circulants, 100
Anticorps
– antiérythrocytaires, 102, 106, 118
– immuns, 94, 109
– naturels, 94, 95, 108
– – irréguliers, 109
– – réguliers, 109
Antigène(s)
– diversité structurale et fonctionnelle, 74
– granulocytaires spécifiques non HLA, 98
– HBs, 50, 53, 55, 57, 59, 154
– plaquettaires spécifiques, 98
Aphérèse, 18, 24
– CGA, 42, 242
– CGDA, 42
– CPA, 39, 206
– PFC, 39, 234
Aptitude au don (critères réglementaires), 19
Arboviroses, 161, 393
Association française des hémophiles (AFH), 8
Atténuation virale, 28
Autoanticorps antiérythrocytaires, 118, 204

© 2015 Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

Auto-immunisation antiérythrocytaire, 101
Automatisation, 46, 63
Autosuffisance, 332

B

Bactéries transmissibles par transfusion, 14, 163, 169
Bénévolat, 348, 352
Bêtathalassémie, 202
Biotechnologies, 293
Biothèques de transfusion, 182
Bleu de méthylène, 28, 30, 40, 41, 234
Bonnes pratiques transfusionnelles, 13, 47, 51, 135, 170, 189, 303, 319, 400
BOTIA (*Blood and Organ Transmissible Infectious Agents*), 183

C

Carton de contrôle, 255, 257
Cellules souches, 72, 268, 270
– d'origine placentaire, 280
– hématopoïétiques (CSH), 67, 225, 262, 283
– – immunophénotype, 72
– périphériques (CSP), 266, 269
– – mobilisation, 268, 270
– – recueil, 270
Centre de transfusion sanguine des armées (CTSA), 4
Centre national de référence pour les groupes sanguins (CNRGS), 114
Centrifugation, 25
Chagas, maladie de, 49, 50, 55, 59, 60, 162, 170, 356, 388, 393
Chaîne transfusionnelle, 23, 299
– incidents, 176
– repères, 301
Chikungunya, 15, 49, 50, 161, 166, 367, 394
Choc
– anaphylactique, 100, 173, 198, 274, 392
– septique ou endotoxinique, 169
Coagulation intravasculaire disséminée (CIVD), 230, 239, 240, 391
Collectes, 12
Comité de sécurité transfusionnelle et d'hémovigilance (CSTH), 190
Commission médicale d'établissement (CME), 181
Compatibilisation, 197, 382
Complexe majeur d'histocompatibilité (CMH), 92, 93
Concentré(s), 116, 124, 197, 198, 199, 200, 204, 208, 210, 211, 213–215, 226, 227
– de globules rouges (CGR), 381, 383
– – CMV-négatif, 197, 382
– – compatibilisé, 197, 382
– – cryoconservé, 199
– – déplasmatisé, 198
– – indications, 200, 227
– – irradié, 198, 382
– – phénotypé, 196, 382
– – préparation pédiatrique, 199
– – température, 204
– de granulocytes d'aphérèse (CGA), 42, 242
– de plaquettes (CP), 206, 382
– – critères de choix, 226
– – cryoconservation, 211
– – délivrance, 214
– – disponibilité, 213
– – EDQM, 210
– – indications, 215
– – préparation pédiatrique, 208
– – qualifications, 211
– de plaquettes d'aphérèse (CPA), 21, 206
– de plaquettes d'aphérèse déleucocyté (CPAD), 39
– érythrocytaires, 44, 196
– globulaire déleucocyté d'aphérèse (CGDA), 42
– globulaires, 33, 42
– – sécurité, 116
– – sélection, 124
– granulocytaires, 242
Conditionnement myéloablatif, 287, 288
Congélation du plasma, 28
Connaissances requises pour l'exercice médical, 380
Conseil transfusionnel, 248
Consentement du receveur, 246
Contrôle ultime prétransfusionnel, 125, 252
Coombs. *Voir* Test direct à l'antiglobuline
Coordonnateur régional d'hémovigilance (CRH), 177
Cordon ombilical, sang de, 281
Correspondant d'hémovigilance, 178, 180, 256, 325
Couche leuco-plaquettaire, 23, 26, 35, 207

Coxiella burnetii, 167
Creutzfeldt-Jakob (maladie de -), 151, 164, 187, 332, 350, 394, 395, 406
– variant, 16, 170
Critères réglementaires d'aptitude au don, 19
Cryoconservation, 44, 199, 211
Cytaphérèse, 270
Cytokines, 295, 296
Cytomégalovirus (CMV), 59, 61, 144, 146, 160, 170, 356, 392
– CGR CMV-négatifs, 197
– CPA CMV-négatifs, 212

D

Décantation, 26
Déleucocytation, 27, 170, 172, 208
Dengue, 49, 50, 161, 166
Dépistage génomique viral (DGV), 50, 53, 63, 156, 166, 366
Déplasmatisation, 44, 209
Dépôts de sang, 4
Détection des agents transmissibles par le sang, 366
Diego, système, 90
Disponibilité des produits, 355
Dispositif de prélèvement, 24
Don(s) du sang
– intervalles entre deux, 21
– standard et causes d'exclusion, 394
Donneur(s) de sang, 11
– effets indésirables, 177
– éthique, 351
– sécurité des, 353
– universel dangereux, 109
Doppler de l'artère cérébrale moyenne fœtale, 132
Doses transfusionnelles, 219
Dossier transfusionnel, 245, 257
Drépanocytose, 116, 203
Duffy, système, 90, 112, 397

E

EBV, 105, 170
EDQM, 210
Effets indésirables
– donneurs (EID), 177
– graves donneurs (EIGD), 177, 179, 405
– graves receveurs (EIGR), 178, 179
– receveurs (EIR), 168, 177
e-FIT, 178, 390
Encéphalopathie spongiforme, 16, 394
Enseignement de la transfusion sanguine, 373
Entretien pré-don, 14
Épreuve de compatibilité, 119
Érythraphérèse, 55
Érythropoïèse, 73
Érythropoïétine, 296, 298
Érythrovirus, 159
Établissement français du sang (EFS), 3
– missions, 403
Étapes du don, 13
État réfractaire, 220, 231
Éthique
– du côté des opérateurs, 352
– du côté des tutelles, organismes de régulation, organismes payeurs, 354
– liée aux donneurs de sang, 351
– liée aux receveurs de produits sanguins labiles, 355
– transfusion sanguine et, 351
Étiquetage-libération, 33
Évaluation
– bénéfice/risque, 358
– de l'efficacité des transfusions, 220, 258
– des pratiques transfusionnelles, 193
Événements indésirables, 22
– receveur (EIR), 256
Examens prétransfusionnels, 247, 249, 388
Exsanguino-transfusion, 146, 205

F

Facteur(s), 37, 42, 100, 238, 241, 294, 295, 298, 392
– de coagulation
– – IX, 295, 298
– – V, 238
– – VIII, 37, 42, 100, 238, 294, 298, 392
– – vWF, 241
– – XI, 238
– de croissance hématopoïétiques, 70, 268, 269
Fédération française du don de sang bénévole (FFDSB), 7, 13
Fédération internationale des organisations de donneurs de sang (FIODS), 7
Fibrinogène, 233, 236
Fiche de délivrance (FD), 386
Filgrastim, 268

Filtration, 27, 34, 41, 235
Fœtus, 132, 139, 364
– maladie hémolytique, 143
– transfusion, 205
Formation(s), 191
– continue, 379
– initiale, 373
– spécialisées, 373

G

G-CSF, 297, 298
– conséquences de l'administration chez le donneur sain, 274
– contre-indications, chez le donneur sain, 273
– effets secondaires, 268
Génotypage, 105, 115, 361, 366
– des systèmes de groupe sanguin KEL, FY, JK, MNS, 123
– du système RH, 124
– moléculaire, 363
– RHD fœtal, 364
Génotype, phénotype et, 363
Gestion des risques, 303
– démarche qualité, 306, 311
Globules rouges, 293
Graft versus Host (GVH), 27, 172, 198, 263, 267, 271, 274, 284, 382
Graft versus Leukemia (GVL), 263, 267
Granulocyte Colony Stimulating Factor. *Voir* G-CSF
Greffe
– de cellules souches hématopoïétiques, 225, 262
– de cellules souches périphériques, 266
– de double sang de cordon ombilical, 287
– de sang de cordon ombilical, 281, 284, 286
Groupes sanguins, 74, 77, 85, 87, 93, 110
– détermination par génotypage, 361
– érythrocytaires, 396
– propres aux polynucléaires et aux plaquettes, 91
Guide de bonne exécution des analyses de biologie médicale (GBEA), 314, 317

H

Hématopoïèse, 67
Hémochromatose, 16, 174, 259
Hémoglobinopathie, 197
Hémoglobinurie paroxystique a frigore, 106
Hémophiles A, 100, 295, 392
Hémorragie aiguë et transfusion massive, 240
Hémovigilance, 22, 168, 175, 256, 332, 405
– concentrés plaquettaires, 230
Homosexualité, 16
HPA, système, 225
HTLV-I, 22, 31, 50, 53, 59, 60, 151, 152, 158, 274, 392
HTLV-II, 31, 50, 53, 59, 152, 158, 392
Hyperbilirubinémie, 127, 135, 205

I

Ictère, 135, 147
Immunoglobulines, 99, 295, 383
Immunologie transfusionnelle, 85
Immunoprophylaxie, 142, 214, 226, 364
Inactivation des agents pathogènes, 40, 161, 210, 231, 233
Incidents de la chaîne transfusionnelle, 176, 178
Incompatibilités érythrocytaires fœtomaternelles, 126
Information
– des receveurs, 246, 357
– post-don, 179, 258
Informatisation, 62
Institut de veille sanitaire (InVS), 17
Institut national de la transfusion sanguine (INTS), 4
Institut national de veille sanitaire (InVS), 2
Intercept®, 30–32, 38, 41, 161, 209, 235
Intervalles entre deux dons, 21
Irradiation, 32, 45, 172, 198, 209, 225

K

Kell, système, 90, 112, 397
Kidd, système, 90, 112, 398
Klebsielles, 169

L

Laboratoire français du fractionnement et des biotechnologies (LFB), 5, 347, 402
Lenograstim, 268
Lewis, système, 95, 398
Loi
– 52-854 du 21 juillet 1952, 399
– 93-5 du 4 janvier 1993, 400
– 98-535 du 1er juillet 1998, 2, 402

Lymphaphérèse, 276
Lymphocytes, recueil par cytaphérèse, 276

M

Maladie hémolytique du nouveau-né, 145
– d'origine immunologique, 126
– non immunologique, 130
Médicaments dérivés du sang (MDS), 5, 382
Mélange de concentrés de plaquettes (MCP), 207, 221, 382
– standards déleucocytés (MCPSD), 37
Membrane du globule rouge, 74
Métabolome, 371
Mirasol®, 210
MNS, système, 90, 113, 398
Moelle osseuse, recueil de, 275
Myélodysplasie, 73, 197, 206, 217

N

Norme NF EN ISO
– 15189, 316, 317
– 9001, 320
Nouveau-né, 135, 242
– exsanguino-transfusion, 146, 205
– maladie hémolytique, 126, 130, 136, 142, 145
– transfusion, 205

O

Œdème pulmonaire lésionnel post-transfusionnel. *Voir* Transfusion-Related Acute Lung Injury (TRALI)
Oxyde d'éthylène, 22

P

P, système, 398
P1PK, système, 90
Paludisme, 15, 55, 59, 60, 64, 90, 346, 393–395
Paludisme post-transfusionnel, 162
Parasites transmissibles par transfusion, 15, 162, 170
Parvovirus B19, 31, 40, 90, 159, 167, 170, 234, 236, 392, 393
Pegfilgrastim, 269
Phénotypage érythrocytaire, 119, 122
Phénotype
– érythrocytaire, 104
– étendu, 120
– génotype et, 363
– RH, prévalence, 122
– RH-KEL1, 119
Photothérapie, 147
Plasma
– frais congelé viro-atténué par solvant-détergent déleucocyté (PVA-SD), 40, 233, 382
– frais sécurisé par quarantaine (PFCADSe), 42
– issu d'aphérèse, 39
– lyophilisé PLYO®, 236
– thérapeutique, 382
– viro-atténué par amotosalen (PFCAD-IA), 41, 235, 382
– viro-atténué par le bleu de méthylène (PVA-BM), 41
Plasmaphérèse, 225, 329
Plasmodium falciparum, 162, 167
Polymorphisme, 85
– des groupes sanguins au niveau moléculaire, 362
– des neutrophiles, 92
– des plaquettes, 92
– des protéines appliqué à la transfusion, 99
Prélèvement, 18
– dispositif de, 24
Préparation des produits sanguins labiles, 22
Préparation pédiatrique, 43, 199, 208
Prescription, 248
Prion, 49, 151, 164, 339
Procédures transfusionnelles, 190
Produits de thérapie cellulaire (PTC), 265
– allogéniques, 272, 273
– autologues, 267
– complications immuno-hématologiques, 279
– procédures de réception et administration, 278
– traitement au laboratoire, 276
– transfusion, 277
Produits sanguins, 22, 24, 33, 248, 249
– autologues, 45
– labiles (PSL), 381
– – commande, 249
– – conservation, 33, 251
– – étiquettage-libération, 33
– – préparation, 22, 24, 33
– – prescription, 248
– – réception, 250

– – transport, 249
– stables, 382
Protéome, 370
Protozoaires intracellulaires, 162
Purpura
– post-transfusionnel, 98, 172
– thrombotique thrombocytopénique, 238, 241

Q

Qualification
– biologique du don (QBD), 46, 47, 51, 152, 180, 208, 212, 367, 387
– CGA, 42, 242
– CP, 211
Quarantaine, 37, 42

R

Réactions allergiques, 392
Receveur(s) de sang
– effets indésirables, 168, 177
– information des, 246, 357
– sécurité immuno-hématologique, 115
– suivi, 258, 396
Recherche d'anticorps antiérythrocytaires (RAI), 54, 96, 110, 118, 131, 139, 201, 389
Recommandations de bonnes pratiques, 115, 190, 212, 225, 245, 248
Réduction de volume, 43, 208
Rendement transfusionnel plaquettaire (RTP), 220
Rh, système, 87, 89, 110, 396
Rhésus. *Voir* Rh, système
Risque transfusionnel, 166
– facteurs aggravants en hématocancérologie, 218
– infectieux, 165
– – résiduel, 166

S

SAG-M (sodium, adénine, glucose, mannitol), 32–35, 43, 196
Sang, 44, 146, 200
– de cordon ombilical, 280, 281, 284, 286
– rare, 354
– total, 18, 21, 34
– – reconstitué, 44, 146, 200
Schéma d'organisation de la transfusion sanguine (SOTS), 405
Sécurisation par quarantaine, 37, 42
Sécurité
– d'un système de soins, notions clés, 312
– de l'acte transfusionnel, 356
– des approvisionnements, 355
– des circuits, 356
– des donneurs, 353
– des patients, 404
– des soins, 299
– évolutive vis-à-vis des maladies transmissibles, 48
– immuno-hématologique des receveurs, 115
– microbiologique et immunologique des produits, 356
Société française d'hémaphérèse (SFH),, 7
Société française de bio-ingénierie cellulaire et tissulaire (SFBCT), 7
Société française de transfusion sanguine (SFTS), 6
Société française de vigilance et de thérapeutique transfusionnelle (SFVTT), 7
Sociologie de la transfusion sanguine, 343
Solution de conservation, 25, 32, 33, 43, 207, 210
Solvant-détergent, 31, 39, 233
Sous-commission à la sécurité transfusionnelle et à l'hémovigilance (SCSTH), 190
Staphylocoques, 169
Substituts
– cellulaires, 293
– protéiques, 294
Suivi du receveur, 258, 396
Surcharge
– en citrate, 393
– ferrique, 174, 259, 393
– volémique, 173, 391, 393
Surveillance du transfusé, 244
Syndrome
– de détresse respiratoire aiguë, 391
– d'immunodéficience acquis (sida), 153
– frissons-hyperthermie, 27, 169, 171, 391
– hémolytique chez l'enfant, 127
– hémolytique et urémique, 238, 384
– hémorragique, 216, 230
– mononucléosique post-transfusionnel, 160
Syphilis, 15, 50, 53–55, 59, 60, 169, 346

T

Témoins de Jéhovah, 345

Test direct à l'antiglobuline, 103, 104, 106, 127, 138
Textes réglementaires en transfusion sanguine, 399
Thalassémies, 202
Theraflex®, 234
Thérapie cellulaire, 261, 262
– immuno-intervention et, 263
– médecine régénérative et, 263
– produits sanguins labiles et, 264
– recueil des produits de, 266
Thrombopénies, 73, 206, 211, 217
– immunes, 229
– non immunes, 229
– périphériques, 230
Thrombopoïèse, 73, 297
Thrombopoïétine, 72, 73, 232, 294, 297, 334
Toxoplasmose, 15, 394
Traçabilité de l'acte transfusionnel, 257
Transcriptome, 370
Transformation, 42, 207, 208
Transfusion autologue programmée (TAP), 296
Transfusion sanguine
– acte transfusionnel, 244
– concentrés érythrocytaires, 196
– concentrés granulocytaires, 242
– concentrés plaquettaires, 206
– en Europe, 327
– enseignement de la, 373
– éthique, 351
– gestes post-, 395
– innovation scientifique et technique, 361
– massive, 95, 240, 363, 393
– plasma thérapeutique, 232
– sociologie de la, 343
– textes réglementaires, 399
Transfusion-Related Acute Lung Injury (TRALI), 168, 171, 172, 210, 221, 231, 236, 237, 244, 356, 391
Treponema pallidum, 165, 166
Trypanosoma cruzi, 49, 50, 55, 151, 162, 165, 167, 170, 235, 236
Trypanosomiases, 15, 162

U

Urgence vitale, 201, 259, 387

V

Variant de la maladie de Creutzfeldt-Jakob (vMCJ), 16, 164, 394, 406
Vélocimétrie Doppler, 133
Viro-atténuation, 40, 210
Virus, 105, 158
– chikungunya, 49, 161, 167, 170, 393
– CMV. *Voir* Cytomégalovirus
– d'Epstein-Barr. *Voir* EBV
– de la dengue, 15, 49, 161, 170, 393, 394
– de l'hépatite A (VHA), 152, 159, 392
– de l'hépatite B (VHB), 15, 22, 50, 53, 55, 59, 63, 64, 152, 154, 274, 366, 392, 393
– de l'hépatite C (VHC), 22, 49, 50, 53, 55, 57, 59, 60, 63, 64, 152, 155, 274, 366, 392, 393
– de l'hépatite E (VHE), 160, 392
– de l'immunodéficience humaine (VIH), 15–17, 22, 50, 53–55, 57, 59, 60, 63, 64, 156, 274, 366, 393
– des leucémies et lymphomes T humains. *Voir* HTLV
– HHV-8, 170
– *West Nile Virus*. *Voir* West Nile Virus
Volontariat, 352

W

West Nile Virus, 15, 48, 50, 161, 166, 184, 235, 236, 367, 393, 394, 406

X

Xg, système, 90

Y

Yersinia entercolitica, 27